

**Histometrische Untersuchungen
zur Bestimmung der Zelldichten
in oralen Leukoplakien**

von

Bertram Graf

aus

Möhringen



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546219_0078

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. O. P. Hornstein

Histometrische Untersuchungen zur Bestimmung der Zelldichten in oralen Leukoplakien

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Bertram Graf

aus

Möhringen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. O.P. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung: 04.02.1980

INHALTSVERZEICHNIS

=====

Seite

1. EINLEITUNG

1.1. Definition der Leukoplakien	3
1.2. Einteilung der Leukoplakien	3
1.3. Bedeutung der Leukoplakien	9

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Bau der normalen menschlichen Mundschleimhaut	14
2.2. Proliferation und Differenzierung der normalen menschlichen Mundschleimhaut	16
2.3. Vorstellungen über Ätiologie, Patho- genese und Epidemiologie der Leuko- plakien im engeren Sinne	28
2.4. Probleme der Diagnostik der Leuko- plakien	31

3. FRAGESTELLUNG

40

4. MATERIAL UND METHODIK

4.1. Das biotische Material	41
4.2. Das Patientengut	45

4.3. Verteilung der Leukoplakie - Diagnose - Gruppen im Unter- suchungsgut	47
4.4. Bestimmung der Zelldichten	47
4.4.1. Gemessene Parameter	47
4.4.2. Bestimmung der Fläche	48
4.4.3. Bestimmung der Kernzahl	57
4.4.4. Untersuchung der Abhängigkeit der Kerndichte vom Keratinisierungsgrad des Epithels	59
5. ERGEBNISSE	
5.1. Gewonnenes Zahlenmaterial	61
5.2. Statistische Auswertung	67
5.2.1. Der Wilcoxon-Test für Paar- differenzen	70
5.2.2. Anwendung des t-Tests	73
5.2.3. Zusammenhang zwischen Zelldichte und Keratinisierungsgrad leuko- plakischen Epithels	87
5.2.4. Zusammenhang zwischen Lebensalter und Zelldichten leukoplakischer Mundschleimhaut	91
6. DISKUSSION	116
7. ZUSAMMENFASSUNG	120
8. LITERATURVERZEICHNIS	123

1. EINLEITUNG: DEFINITION, EINTEILUNG UND BEDEUTUNG DER LEUKOPLAKIEN DER MUNDSCHLEIMHAUT

1.1 Definition:

Der Begriff "Leukoplakie" wurde zum ersten Mal durch SCHWIMMER (1877) geprägt und hat sich inhaltlich bisher kaum verändert, da seither keine bessere nosologische Abgrenzung, keine einheitliche morphologische Zuordnung und keine brauchbare ätiologische Untermauerung möglich war. (FASSKE, HAHN, MORGENROTH, THEMANN, 1956/59) Nach dem Ausschuß für orale Präkanzerosen der WHO wird eine orale Leukoplakie heute folgendermaßen definiert: ein weißes Areal, das auf Grund klinischer Untersuchung und Laboruntersuchung keiner anderen diagnostischen Gruppe zugeordnet werden kann. Klinisch stellt sich eine Leukoplakie dar als ein weißlicher, festhaftender Belag, als eine mehr oder minder starke, umschriebene oder auch ausgedehnte keratotische Verdickung der Mundschleimhaut (GREITHER 1974).

Der Begriff "Leukoplakie" kann bisher also nur in Form einer Ausschußdefinition oder rein symptomatisch-deskriptiv erfaßt werden.

1.2 Einteilung:

Ebenso problematisch, wie die Frage nach der Definition der Leukoplakien, ist die Frage nach deren Einteilung. Eine Einteilung der Leukoplakien wurde vom nosologischen, klinischen oder histologischen Standpunkt aus versucht.

1.2.1 Nosologische Einteilung:

GREITHER (1974) trifft folgende Einteilung der Leukoplakien:

1. Idiopathische Leukoplakie:

Dabei handelt es sich um verschieden starke Keratinisierungsgrade an anatomisch und physiologisch prädisponierten Stellen, zum Beispiel am Wangensaum, einer Zone, die schon auf Grund ihrer phylogenetischen Herkunft leichter zur Keratinisierung neigt, und die zudem durch die sich ständig bewegendenden Zahnkämme von Ober- und Unterkiefer fortlaufend mechanischer Beanspruchung ausgesetzt ist.

2. Traumatisch-irritative Leukoplakie:

Eine solche Leukoplakie entsteht ohne anatomische Prädisposition auf Grund mechanischer, thermischer oder chemischer Reize, die über einen längeren Zeitraum auf die Mundschleimhaut einwirken. Als wichtigste Beispiele seien hier der Druck ungeeigneter Prothesen sowie die Leukokeratosis nicotina palati genannt.

3. Symptomatische Leukoplakie:

Hierbei handelt es sich um Leukoplakien, die Ausdruck einer übergeordneten Krankheit sind, mit grundsätzlich der gleichen, die übergeordnete Krankheit charakterisierenden Grundeffloreszenz, wie etwa im Falle des Lichen ruber planus, nur daß im Bereich der Mundschleimhaut die erythematöse Papel weniger in Erscheinung tritt, als die Hyperkeratose.

SCHUERMANN, GREITHER und HORNSTEIN (1966) unterscheiden:

1. die idiopathischen Leukoplakien, keratotische Schleimhautzustände von geringem oder fehlendem Krankheitswert (z.B. Exfoliatio areata linguae oder lingua pilosa nigra et alba),
2. symptomatische Leukoplakien
 - a) nicht autochthon als Symptom einer übergeordneten Krankheit,
 - b) als lokale Reaktion auf traumatisch-irritative Reize mechanischer, chemischer oder thermischer Art,
3. präkanzeröse Leukoplakien, die das obligate Vorstadium der Schleimhautkarzinome darstellen.

GREITHER (1970) bezeichnet sie als Leukoplakien im engsten Sinn, z.B. Morbus Bowen, Leukoplakie bei Erythroplasie, Dyskeratosis kongenita oder Polykeratosis Touraine.

Die Bezeichnung "präkanzerös" stützt sich nach MIESCHER (1943) auf klinische Erfahrung und Anamnese, indem es sich bei präkanzerösen Leukoplakien um pathologische Zustände handelt, die so häufig Ausgangspunkt von Schleimhautkarzinomen darstellen, daß diese Entartung nicht dem Zufall zugeschrieben werden kann. Die so bezeichneten Schleimhautveränderungen weisen von Anfang an charakteristische histologische Merkmale auf, die auch bei nachfolgendem invasivem Wachstum unverändert bleiben.

1.2.2 Klinische Einteilung:

Die klinische Einteilung richtet sich vor allem nach

dem makroskopischen Aspekt einer Leukoplakie. Nach HOBÆK (1946) und MATHIS (1964) wird eine diffus-plane von einer verrukös-erosiv-vegetierenden Wachstumsform unterschieden. Die erste Form steht unter dem diagnostischen Leitsymptom der nicht abwischbaren weißlichen Flecke, die sich von der umgebenden Schleimhaut scharf abgrenzen. Die warzig vegetierende Leukoplakie überragt das Schleimhautniveau in Form verruköser oder papillomatöser Gebilde, wobei sich sehr häufig zusätzliche Entzündungsreaktionen als Rötung, Erosion oder oberflächliche Ulzeration nachweisen lassen.

RENSTRUP (1958) und PINDBORG (1976) definierten ein drittes klinisches Erscheinungsbild der Leukoplakie, die "fleckige Leukoplakie" (speckled leukoplakia), die sich als ein Areal mit weißlichen, manchmal knötigen Flecken und unterschiedlich großen erythematösen Bezirken darstellt. Man kann sie auch als Zwischenform zwischen der Erythroplasie und der Leukoplakie auffassen. Die Unterscheidung dieser dritten Leukoplakieform erscheint gerechtfertigt, da sie häufiger mit epithelialer Atypie vergesellschaftet ist, als die übrigen Leukoplakieformen (PINDBORG 1963) und daher ein höheres Entartungsrisiko hat.

BANOCZY (1971) unterscheidet eine leicht erhabene diffuse Form, eine verrukös-proliferierende und eine ulzerierende Form.

Der Nachteil dieser Einteilungen liegt darin, daß das klinische Erscheinungsbild kaum Rückschlüsse auf das maligne Potential einer Leukoplakie zuläßt, obwohl allgemein eingeräumt wird, daß die "fleckige Leukoplakie" ein höheres Entartungsrisiko hat.

1.1.3 Histologische Einteilung:

BANOCZY (1971) ordnet ihren drei klinischen Leukoplakieformen jeweils verschiedene Histologie-Typen zu.

Die klinische Form, die sich als leicht erhabener weißlicher Fleck darstellt, ist charakterisiert durch Hyperorthokeratose, die Anwesenheit eines Stratum granulosum und Zeichen chronischer Entzündung im subepithelialen Bindegewebe. Das Gewebe zeigt regelrechte Struktur, wobei man sowohl Hyperplasie als auch Atrophie vorfinden kann. Diese Form bezeichnet BANOCZY als Leukoplakia simplex. Die Leukoplakia verrukosa ist durch Dyskeratose sowie chronische Entzündungszeichen im subepithelialen Bindegewebe gekennzeichnet, während sich die Leukoplakia erosiva als Parakeratose, Hyperparakeratose oder Dyskeratose mit epithelialer Hyperplasie und chronischer Entzündung des subepithelialen Bindegewebes darstellt. Auf FASSKE und Mitarbeiter (1959) geht folgendes morphologische Einteilungsprinzip zurück. Sie unterscheiden:

- Gruppe I: Leukoplakien, verursacht durch umschriebene gleichförmige Epithelhyperplasie ohne Verhornung,
- Gruppe II: Leukoplakien als Folge echter Ortho- oder Parakeratose ,
- Gruppe III: Leukoplakien, bedingt durch eine Kombination von Hyperplasie und Keratose,
- Gruppe IV: Leukoplakien mit gestörter Histoarchitektur (Schichtwerfung, Zell- und Kernatypien, Mitosereichtum, Hyperkeratose, Parakeratose).

RENSTRUP (1963) teilt die Leukoplakien nach ihrem Verhornungsmodus in zwei Gruppen, die hyperorthokeratotischen und die hyperparakeratotischen Leukoplakien.

Wir haben unserer Arbeit eine Einteilung zugrunde gelegt, die von der WHO-Definition der Leukoplakie ausgeht. Nach dieser Definition ist eine Leukoplakie, wie bereits gesagt, ein weißer, nicht wegweisbarer, keiner definierten Krankheit zuzuordnender Schleimhautbezirk. Die so charakterisierten Leukoplakien werden als Leukoplakien im engeren Sinne bezeichnet. Alle anderen, einer definierten Krankheit zuzuordnenden weißen, wegweisbaren Schleimhautareale werden als Leukoplakien im weiteren Sinn aufgefaßt.

Nach HORNSTEIN (1977) unterscheiden wir vier Hauptgruppen von Leukoplakien:

- A) Hereditäre Leukoplakien
- B) Endogen-irritative Leukoplakien
- C) Exogen-irritative Leukoplakien
- D) Präkanzeröse Leukoplakien

Nach der WHO-Definition sind die Leukoplakien der ersten beiden Gruppen Leukoplakien im weiteren Sinn, während nur die letzten beiden Gruppen als Leukoplakien im engeren Sinn zu betrachten sind.

Dabei kann man die ersten drei Gruppen als primär benigne Leukoplakien bezeichnen, wobei diese Gruppen ätiologisch und prognostisch dennoch völlig uneinheitlich sind. In allen Gruppen gibt es Leukoplakien mit völlig harmloser Prognose und solche mit erhöhter Kanzerisierungsrate.

Die Leukoplakien der vierten Gruppe sind als prämaligne

Läsionen zu verstehen, denen allerdings meist ein klinisch und histologisch benignes Stadium vorausgeht, das sich nach HORNSTEIN im allgemeinen einer der vorgenannten Leukoplakiegruppen - meist der dritten - zuordnen läßt.

Nach HORNSTEIN entsteht nur in wenigen Fällen die Präkanzerose scheinbar primär.

1.3 Bedeutung der Leukoplakien:

Die Bedeutung der Leukoplakien der Mundschleimhaut ergibt sich zum einen daraus, daß bestimmte Leukoplakieformen ein gewisses malignes Entartungspotential besitzen, zum anderen aus der Tatsache, daß die Leukoplakien der Mundschleimhaut infolge ihres zum Teil präkanzerösen Charakters und infolge ihrer relativ leichten Zugänglichkeit hervorragend geeignet sind für das Studium von Proliferationsvorgängen, vor allem von Änderungen des Proliferationsgleichgewichts im Sinne einer malignen Entartung.

Dabei ist die Frage von Interesse, welche Leukoplakieformen man als Präkanzerosen bezeichnen kann.

Geht man von einer histologischen Einteilung aus, so sind alle Leukoplakien mit gestörter Histoarchitektur als verdächtig zu betrachten. Dies geht vor allem aus der Arbeit von FASSKE und Mitarbeitern (1959) hervor, die bei ihrer Einteilung der Leukoplakien in vier Gruppen mit unterschiedlichen histologischen Kriterien, die oben bereits beschrieben worden sind, zu dem Schluß kommen, daß Präkanzerosen nur in der Gruppe IV nach ihrer Einteilung zu suchen sind, das heißt unter solchen Leukoplakien, die Zell- und Kernatypien zeigen.

BANOCZY (1971) korrelierte ihre histologischen Leukoplakieformen zwar nicht mit einem möglichen malignen Potential, konnte aber nachweisen, daß die durchschnittliche mitotische Aktivität (= Zahl der Mitosefiguren pro Einheitslänge der Basalmembran) in leukoplakischen Gewebeproben mit Hyperparakeratose deutlich höher liegt, als in leukoplakischer Mundschleimhaut mit Hyperorthokeratose.

Dies stimmt mit den Ergebnissen von RENSTRUP (1963), MAIN (1966), CAHN et al. (1961) sowie SAHIAR et al. (1975) überein, die bei Leukoplakien mit Parakeratose überzufällig häufig eine maligne Entartung fanden, beziehungsweise eine erhöhte Häufigkeit von Dysplasien in Gewebeproben mit Parakeratose im Vergleich zu solchen mit Orthokeratose entdeckten.

Geht man von einer klinischen Einteilung der Leukoplakien aus, so ist die Frage nach der Möglichkeit ihrer malignen Entartung schon schwieriger zu beantworten. Präkanzeröse Läsionen der Mundschleimhaut können klinisch als chronische weiße Läsionen (Leukoplakie) oder chronische rote Läsionen (Erythroplasie) oder als die von RENSTRUP (1958) und PINDBORG (1976) definierte fleckige Leukoplakie, einer Mischform zwischen den beiden erstgenannten, auftreten.

Dabei gehen nach der Meinung mehrerer Untersucher die meisten Mundschleimhautkarzinome von einer Läsion mit erythroplastischer Komponente aus.

Dies zeigen vor allem Untersuchungen von KRAMER (1976), der das Entartungsrisiko bei der Erythroplakie am

höchsten ansetzte, gefolgt von der fleckigen Leukoplakie und schließlich der erosiven Leukoplakie.

Auch RENSTRUP (1958) und PINDBORG (1976) schreiben der fleckigen Leukoplakie ein höheres malignes Potential zu, als der Leukoplakia simplex. Teilt man die Leukoplakien nach HOBAEK (1946) und MATHIS (1964) lediglich in eine diffus-plane und in eine verrukös-erosiv-vegetierende Wachstumsform ein, so ist auf Grund klinischer Erfahrung bei der zweiten Form das größere Entartungsrisiko zu suchen.

Die ätiologischen Einteilungen der Leukoplakien erlauben kaum eine Aussage über deren jeweilige Bedeutung als Präkanzerose.

Aussagen existieren über spezielle Leukoplakieformen innerhalb der einzelnen Gruppen, so zum Beispiel über die Leukokeratosis nicotinic palati aus der Gruppe der exogen-irritativen Leukoplakien. Es handelt sich hierbei um ein begrenztes weißes Areal der Mundschleimhaut des harten Gaumens mit erhabenen Wällen und zentralem roten Punkt der jeweils einem Drüsenausführungsgang entspricht. Nach KRAMER (1976) soll das Risiko maligner Entartung geringer sein als bei idiopathischen Leukoplakien.

Als weiteres Beispiel sei der Lichen ruber planus aus der Gruppe der symptomatischen Leukoplakien genannt, dem man lange Zeit auch eine gewisse Potenz zum Übergang in eine bösartige Geschwulst zuschrieb. Nach REISMAN et al. (1974) ist es vernünftig, anzunehmen, daß die maligne Degeneration von Lichen planus in der Mundhöhle ein höchst unwahrscheinliches Ereignis ist, und daß Berichte, die von einer solchen Umwandlung sprechen, von einer falschen Diagnose ausgehen, da ora-

ler Lichen planus und Leukoplakien im engeren Sinn viele Merkmale gemeinsam haben und unter Umständen verwechselt werden können.

Die Berichte über die Entartungshäufigkeit der Leukoplakien insgesamt, gleich welcher Genese, gehen weit auseinander. Die einzelnen Untersucher fanden folgende Entartungshäufigkeiten:

SCHOLL (1973)	unter 10 %
ESSER u. TETSCH (1972)	9,3 %
PINDBORG et al. (1976)	4,4 %

Auch über die Lokalisation der Areale mit dem höchsten Entartungsrisiko liegen Berichte vor. So verteilen sich nach einer Arbeit von WALDRON und SHAFER (1975) die Gebiete der Mundschleimhaut mit mehr oder weniger hohem Entartungsrisiko folgendermaßen:

Mundboden	42,9 %
Zunge	24,2 %
Lippe	24,0 %

Zusammenfassend kann man sagen, daß es keinen Zweifel darüber geben kann, daß zumindest einige Leukoplakieformen als Präkanzerosen angesehen werden müssen und deshalb nach Mitteln gesucht werden muß, diese Präkanzerosen möglichst früh zu diagnostizieren und so die Grundlage für eine erfolgreiche Therapie zu schaffen.

Die nachfolgende Literaturübersicht bringt eine Auswahl derjenigen Erkenntnisse, die bisher über epitheliale Wachstumsvorgänge und Regelmechanismen allge-

mein sowie über leukoplakische Veränderungen, deren Ätiologie, Pathogenese, Epidemiologie und Diagnostik angereichert worden sind.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Bau der normalen Mundschleimhaut:

Die menschliche Mundschleimhaut kann man hinsichtlich Verhornungstyp, Epithelaufbau und Struktur des subepithelialen Bindegewebes in drei verschiedene Wachstumsformen einteilen. Vor allem unterscheidet man die keratinisierte und die nicht keratinisierte orale Mucosa. Bei der keratinisierten oralen Mucosa findet man entweder eine Parakeratose oder eine Orthokeratose (SQUIER et al. 1976).

Das keratinisierte orale Epithel zeigt eine deutliche Schichtentrennung, wobei das Stratum basale, spinosum und granulosum die Zellkerne führenden Schichten darstellen, auf welche beim orthokeratotischen Epithel noch das Stratum corneum folgt, in welchem die Zellen stark abgeflacht, kernlos und mit eosinophilem Keratin angefüllt sind.

Im parakeratotischen Epithel findet sich über dem Stratum granulosum eine parakeratotische Hornschicht, das heißt Zellen mit eosinophilem Keratin im Cytoplasma, aber noch erhaltenem, wenn auch zum großen Teil pyknotischen Zellkern.

Das nicht keratinisierte orale Epithel zeigt keine so deutliche Trennung in verschiedene Schichten, da ein Stratum granulosum und eine Hornschicht fehlen. Die oberflächlichen Zellen enthalten annähernd normale Zellkerne und ihr Cytoplasma zeigt keine oder nur wenige eosinophile Einlagerungen. Die nicht verhornten Epithelien sind dicker als die keratinisierten, manchmal bis zu zweimal so dick.

Die genannten Epitheltypen zeigen eine unterschiedliche regionale Verteilung in der menschlichen Mundhöhle. Bezüglich der Dicke des Epithels, dem Verbreitungsgrad und dem Keratinisierungstyp kann man drei verschiedene Regionen in der menschlichen Mundhöhle unterscheiden (SQUIER et al. 1976):

- a) die mastikatorische Mucosa,
- b) die einfach auskleidende Mucosa und
- c) die spezialisierte Mucosa.

Die mastikatorische Mucosa findet sich an den Stellen der Mundhöhle, die den Kompressionen und Scherkräften des Kauens ausgesetzt sind, wie etwa der harte Gaumen und die Gingiva. Dieser hohen Beanspruchung wird weiter durch sehr tiefe Rete-Leisten entsprochen sowie durch die Tatsache, daß die Mucosa hier verhornt ist, wobei die Verhornung meist vom orthokeratotischen, manchmal auch vom parakeratotischen Typ ist.

Die einfach auskleidende Mucosa bedeckt die Lippen, Wangen, Unterseite der Zunge, den Mundboden sowie die Alveolarfortsätze bis zur Gingiva und den weichen Gaumen. Das Epithel ist hier normalerweise nicht keratinisiert, aber wesentlich dicker als das der Kauregionen, manchmal, wie etwa an der Wange, bis zu 500 μ m. Es finden sich nur kurze und flache Rete-Leisten.

Der Zungenrücken trägt die spezialisierte Mucosa, die normalerweise ebenfalls keine Verhornung zeigt.

Für das Verständnis von Leukoplakien sind neben dem Bau und der Funktion der normalen Mundschleimhaut auch deren

Proliferations- und Differenzierungsverhalten sowie diejenigen Mechanismen, durch welche dieses Verhalten geregelt wird, von Bedeutung.

2.2. Proliferation und Differenzierung der normalen menschlichen Mundschleimhaut:

Das mehrschichtige Plattenepithel unterschiedlicher Lokalisation beim Warmblüter gehört zu den sogenannten Wechsellgeweben, in denen ein lebhafter Zellumsatz stattfindet.

Im histologischen Bild kann man nach OEHLERT (1970) auf Grund ihrer Lokalisation und zytoplasmatischen Differenzierung zwei Zellarten voneinander unterscheiden, von denen eine in einschichtiger Lage der Basalmembran aufliegt und die dementsprechend als Basalzellschicht bezeichnet wird, während alle übrigen, das mehrschichtige Plattenepithel aufbauenden Zellagen ihren Kontakt zur Basalmembran verloren haben und mit ihren charakteristischen Interzellularbrücken das Stratum spinosum, granulosum und beim verhornenden Plattenepithel das Stratum corneum bilden.

Lange Zeit bestand nun Unklarheit darüber, von welchen Zellschichten bzw. von welcher Zellschicht die Zellneubildung ausgeht. OEHLERT (1970) beantwortet diese Frage folgendermaßen: Das Maximum der Zellneubildung liegt im Stratum basale und ist nur in besonderen Fällen auch in den unteren Lagen des Stratum spinosum lokalisiert. Von diesen, als Indifferenzzone bezeichneten, basalen Zellagen aus erfolgt ein unaufhörlicher Abstrom von Epithelzellen, die unter Erlangung der Fähigkeit zur Keratinsynthese und zunehmender Verhornung in das Stratum corneum gelangen.

Auch KARRING (1973) kommt zu dem Schluß, daß Mitosen nur

in den basalen Zellschichten möglich sind, in denen die Zellen mit Zytoplasmafortsätzen noch Verbindung zur Basalmembran besitzen. Geht diese Verbindung verloren, so ist dies mit einem Verlust der Fähigkeit zur DNS-Synthese und damit der Teilungsfähigkeit der Zellen verbunden. LÖE (1972) und SQUIER et al. (1976) gehen ebenfalls davon aus, daß Zellteilungen nur an der Basalmembran oder höchstens in den drei basalen Zellagen stattfinden, wobei LÖE et al. anhand von Wachstumsmodellen von Gewebeproben nachweisen konnten, daß auch in der zweiten und dritten Zellage nur jene Zellen zur Teilung befähigt sind, die unmittelbaren Kontakt zur Basalmembran haben. Dabei fiel den Untersuchern auf, daß die Zellteilungsfiguren nicht gleichmäßig über die Länge der Basalmembran verstreut sind, sondern an bestimmten Stellen gehäuft auftreten. Diese Häufungen von Zellteilungen werden als "Cluster" bezeichnet und finden sich in Epithelien mit komplexer Bindegewebsoberfläche vornehmlich an der Spitze der Rete-Leisten.

OEHLERT (1970) untersuchte am Beispiel der Schweineepidermis den Teilungsmodus der Basalzellen und fand, daß in den Indifferenzonen des mehrschichtigen Plattenepithels inäquale Teilungen stattfinden, wobei in über fünfzig Prozent der Anaphasen die Teilungsachse senkrecht auf der Basalmembran stand, in weniger als fünfzig Prozent der Fälle stand die Teilungsachse entweder schräg oder parallel zur Basalmembran. In den Fällen, wo die Teilungsachse senkrecht auf der Basalmembran steht, wird im Verlauf der Mitose die eine, neu entstehende Tochterzelle aus dem Stratum basale heraus in die unteren Zellagen des Stratum spinosum geschoben und dadurch der Anstoß zu ihrer Differenzierung gegeben und durch ihre

Lösung von der Basalmembran der Verlust der Fähigkeit zur DNS-Synthese und Zellteilung bestimmt. Diese Determination der Differenzierung wird auch von BULLOUGH (1963) bestätigt, der die Ansicht vertritt, daß sich bereits in der G_1 -Phase, also der postmitotischen oder präsynthetischen Pause, entscheidet, ob eine Zelle im proliferativen Pool bleibt, das heißt, die Fähigkeit zur weiteren Teilung beibehält, oder ob sie sich ausdifferenziert und damit die Teilungsfähigkeit verliert.

KARRING (1973) konnte allerdings das Ergebnis von OEHLERT, das an der Schweineepidermis gewonnen worden war, für die menschliche Mundschleimhaut bezüglich der Zahl der aus dem proliferierenden Pool ausscheidenden Zellen nicht bestätigen. Nach OEHLERT müsste ungefähr ein Viertel aller jeweils neugebildeten Zellen aus dem Stratum basale abwandern und sich differenzieren.

KARRING fand im Falle der menschlichen Mundschleimhaut, daß 85 bis 90 % der basalen Zellen nach ihrer Teilung wieder zwei basale Zellen ergeben und nur 10 bis 15 % der Teilungen zu einer basalen und einer differenzierten Zelle führen.

Im nachfolgenden Abschnitt sei kurz erwähnt, welche Vorstellungen heute über diejenigen Regelmechanismen existieren, die das Gleichgewicht zwischen Zellneubildung in den basalen Schichten des Epithels und Zelltod an der Oberfläche aufrechterhalten und welche Strukturen man für die Angriffspunkte der genannten Regelmechanismen hält.

Nach IVERSEN (1961) besteht eine Wechselwirkung zwischen den Zellen des Stratum spinosum und denen des Stratum basale in Form eines innergeweblichen Regulationsmechanismus, so daß ein erhöhter Zellverlust an der Geweboberfläche durch erhöhte Zellproduktion in der Basal-

zellschicht ausgeglichen werden kann und umgekehrt. Die Vorstellungen gehen dahin, daß die postmitotischen Zellen aus dem Stratum basale abwandern und sich differenzieren. Durch die Differenzierung erlangen sie die Fähigkeit, eine Substanz zu produzieren, die mitosehemmend auf die undifferenzierten Zellen des Stratum basale wirkt.

Nach BULLOUGH und LAURENCE (1966) handelt es sich bei der wirksamen Komponente dieser Substanz um ein Glykoproteid. BULLOUGH bezeichnet diese Substanz als "Chalone". Ihr Nachweis gelang bisher nur beim Tier.

Ein erhöhter Zellverlust an der Geweboberfläche oder eine Störung der Differenzierungsprozesse, z.B. durch Carcinogene oder Hyperplasiogene, hat eine Abnahme der Konzentration des Mitosehemmstoffs zur Folge und infolge des negativen feed-back-Mechanismus eine Zunahme der Mitosen in der Basalzellschicht und somit die Wiederherstellung des Proliferationsgleichgewichts, beziehungsweise im Falle des Einflusses von Carcinogenen die Herstellung eines Proliferationsungleichgewichts.

Die Existenz eines solchen innergeweblichen Regulationsystems wird bestätigt durch die Beobachtungen von KIRSCHNER (1968), der eine Änderung der Zellneubildungsrate in der Mundschleimhaut von Ratten in Abhängigkeit von der Konsistenz der Nahrung feststellte. Bei harter Nahrung, die zu einer verstärkten Abschilferung der Zellen an der Oberfläche der Mukosa führt, nahm die Zellneubildungsrate zu und umgekehrt, bei weicher Nahrung, nahm sie ab. Schon SCHILLI (1964) kam zu vergleichbaren Ergebnissen. Er fixierte bei Ratten einen Aufbiß im Bereich der oberen Frontzähne, was zur Verkleinerung des Zungenraumes führte. Bereits am ersten Tage

konnte im Zungenepithel ein auf das Doppelte erhöhter H³-Index festgestellt werden. Nach 8 Tagen war dagegen der Index wieder auf den Normwert gesunken.

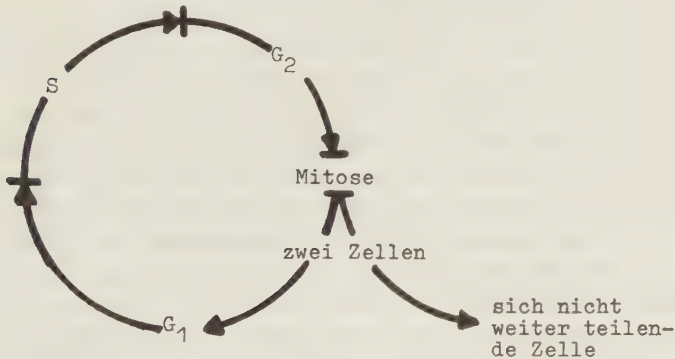
Ähnliche Befunde wie KIRSCHNER hatten OEHLERT et al. (1966) an der Schweineepidermis erhalten, nachdem sie die Proliferation durch wiederholtes Abreißen (= stripping) der Hornschicht mit Klebefolie angeregt hatten. OEHLERT (1970) sieht in der Störung des aufgezeichneten Regulationsmechanismus möglicherweise den Anstoß für eine Karzinombildung. Karzinogene könnten die Fähigkeit der ausdifferenzierten Zellen zur Bildung der Chalone alterieren. Elektronenmikroskopisch faßbare Veränderungen der Zellstrukturen nach Behandlung mit echten Karzinogenen oder aber Hyperplasiogenen sprechen für eine Störung der Differenzierungsprozesse, die dann zu einer Störung der Keratinisierung führt. Die verminderte Ausdifferenzierung manifestiert sich in einer verminderten Produktion von Hemmstoff und damit in einer vermehrten Zellproliferation im Stratum basale. VAN SCOTT (1966) konnte durch lokale Behandlung des menschlichen Mundhöhlenepithels mit dem Mitosehemmstoff Podophyllin die mitotische Aktivität im Stratum basale unterdrücken und auf diese Weise den Zellabstrom aus dem Stratum germinativum verlangsamen. Unter dieser Behandlung erfolgte die Bildung von Hartkeratin und es entstand eine umschriebene Leukoplakie. Dieser Versuch zeigt, daß eine einmalige, durch ein Zytostatikum ausgelöste Mitosesenkung über längere Zeit hinweg weiterwirkt, weil von den verlangsamt abwandernden und sich dementsprechend verstärkt ausdifferenzierenden Zellen in diesem Bereich vermehrt Hemmsubstanz an das Stratum basale abgegeben wird und hierdurch der Zellnachschieb über längere Zeit verlangsamt wird. Dieses Ergebnis wird durch

eine Untersuchung von MEYER et al. (1967) gestützt, die bei tabakinduzierten Leukoplakien in einigen Fällen fanden, daß eine Zunahme der Dicke des Stratum corneum mit einer Abnahme des Mitoseindex korreliert war.

Das oben geschilderte innergewebliche Regulationssystem setzt die Existenz einer Zellpopulation voraus, die in unbeschränktem Ausmaß zu dauernder Zellneubildung befähigt ist, deren Geschwindigkeit nur noch durch die Dauer der für die nächste Zellteilung notwendigen Stoffwechselprozesse bestimmt ist (OEHLERT 1966). Dabei erhebt sich die Frage, welche Phase im Zellzyklus zeitlich am ehesten variiert werden kann, d.h. an welcher Phase des Zellzyklus das Regulationssystem angreift.

Abb. Nr. 1:

Lebenszyklus von Zellen (nach BASERGA 1965)



Nach einer durchgemachten Mitose tritt eine Zelle in die postmitotische oder präsynthetische G₁-Phase, die durch RNA- und Proteinbiosynthese gekennzeichnet ist. Darauf folgt die S-Phase, in welcher vor allem die DNS-Reduplikation vorgenommen wird. Anschließend durch-

läuft die Zelle die postsynthetische oder prämitotische G_2 -Phase, in der die RNS- und Proteinbiosynthese fort-dauert. Die darauffolgende Mitose liefert zwei Tochterzellen, die entweder einen weiteren Zyklus durchlaufen können oder aber sich differenzieren können, wodurch sie ihre Teilungsfähigkeit verlieren.

Ein Regulationssystem hat nun an der Phase des Zyklus den besten Angriffspunkt, der zeitlich den größten Spielraum zuläßt. Nach SQUIER (1976), der die Länge der einzelnen Phasen mit Hilfe der H_3 -Thymidinmethode bzw. der C^{14} -Methode bei Laboratoriumstieren bestimmte, sowie nach FABRIKANT (1969), der seine Untersuchungen an Mammazellen von Mäusen durchführte, ist die G_1 -Phase diejenige Phase im Lebenszyklus einer Zelle, die zeitlich die größte Variationsbreite bietet, d.h. hier können Regulationsmechanismen der Proliferationsgeschwindigkeit am wirkungsvollsten angreifen.

Zellpopulationen, bei denen die G_1 -Phase die größte zeitliche Schwankungsbreite aufweist, werden als G_1 -Populationen bezeichnet. Innerhalb der G_1 -Phase ist es nach Untersuchungen von OEHLERT, BLOCK, SEITER (1963), HELL und CRUICKSHANK (1963) sowie LADINSKY und PECKHAM (1965) das Einsetzen der DNS-Synthese, das die Dauer der G_1 -Phase bestimmt. Chalone könnten also bei G_1 -Populationen auf der Grundlage der Verzögerung des Beginns der DNS-Synthese wirken. Für die G_1 -Populationen fand IVERSEN (1965), daß die Chalone die Synthese bestimmter Enzyme verhindern, die ihrerseits die DNS-Synthese auslösen, möglicherweise der DNS-Synthetase.

Es wurden allerdings auch Populationen gefunden (OEHLERT 1966), die sich unter Umständen über mehrere Tage hinweg in der G_2 -Phase befinden, d.h. in der Phase, die

zwischen Vollendung der DNS-Synthese und Eintritt in die Mitose liegt. Bei solchen, als G_2 -Populationen bezeichneten Zellgruppen können Chalone nicht an der DNS-Verdoppelung angreifen, da diese ja bereits durchgeführt ist, sondern an einem zusätzlichen Faktor, der für den Eintritt in den eigentlichen Mitosevorgang notwendig ist, möglicherweise an einem Protein.

Der Erkenntnis, daß dem tumorösen oder präkanzerösen Geschehen innerhalb eines Epithels eine Störung der Regulationsmechanismen für die Länge bestimmter Phasen des Zellzyklus zugrunde liegt, scheinen die Untersuchungsergebnisse von FABRIKANT (1969) und RAJEWSKY (1966) zu widersprechen. RAJEWSKY fand, daß die Gesamtzyklusdauer für alle Zellen einer Population nicht gleich ist, sondern daß eine Verteilung der Werte vorliegt, die insbesondere bei Tumorgeweben breit zu sein scheint. FABRIKANT kam zu dem Ergebnis, daß die Gesamtgenerationszeit in normalen Mammazellen von Mäusen kürzer ist, als diejenige der sogar am schnellsten wachsenden experimentellen Tumorzellen. Beide Autoren räumen ein, daß eine Steigerung der Proliferationsrate nicht allein durch Verkürzung der Generationszeit, beziehungsweise einzelner Phasen der Generationszeit, erreicht werden kann, sondern vor allem durch eine Erhöhung der sogenannten "effektiven growth-fraction". BASERGA (1965) behauptet, daß es letztlich das gleiche bedeutet, ob nun eine erhöhte Zellproduktion auf einen verkürzten Zellzyklus oder eine Zunahme des proliferierenden Zellpools zurückgeführt wird, da beide Veränderungen auf demselben Mechanismus beruhen, nämlich einer Störung der Kontrolle für die Zellteilung. Eine Zelle, die bereits die DNS-Synthese durchgemacht hat, hat schon die Ent-

scheidung gefällt, sich zu teilen. Das bedeutet, daß die Kontrolle der Zellteilung der Kontrolle der Initiierung der DNS-Synthese gleichkommt.

Neben dem innergeweblichen Regulationsmechanismus nimmt man noch andere Einflüsse an, die die Proliferationskinetik der Mundschleimhaut variieren können.

Auf Grund ihrer komplexen Wirkung, unter anderem auf das Wachstumsverhalten der verschiedensten Gewebe, ist es einsichtig, daß die Hormone auch am Mundschleimhautepithel eine Wirkung entfalten.

Nach SQUIER (1976) haben Sexualhormone den größten Einfluß sowie Insulin, während die hypophysären Hormone nur eine begrenzte Wirkung an der Mucosa der Mundhöhle erzielen. Hohe Östrogen- und Gestagenspiegel erzeugen eine erhöhte Mitoserate, was sich in Hyperplasie und verstärkter Keratinisierung äußert und auch in einem verstärkten Kollagenstoffwechsel der Lamina propria. Cyclische Veränderungen des Keratinisierungsgrades und der Proliferationskinetik der Mucosa bei Frauen sind schon seit längerer Zeit bekannt. Am auffälligsten sind die Veränderungen in der Postmenopause, wo die orale Mucosa atrophisch wird (SQUIER, 1976).

Insulin wirkt vermutlich über den Glykogenpool der Mundschleimhaut, der, wie noch zuzeigen sein wird, eine große Rolle im Differenzierungsgeschehen spielt.

Nach OEHLERT (1966) wirken Cortison und Adrenalin hemmend auf das Wachstum der oralen Mucosa. Auf den Adrenalin-einfluß ist wahrscheinlich der circadiane Proliferationsrhythmus der Mundschleimhaut zurückzuführen mit einem Höhepunkt in der Nacht und einem Minimum am Tag. Dies stimmt auch mit den Untersuchungsergebnissen von HENNINGS, ELGJO und INVERSEN (1969), ELGJO, LAERUM und

EDGEHILL (1971/1972) überein, die deutlich machten, daß es zwei Chalonesysteme geben muß.

Eine Chalone-Substanz wird von den ausdifferenzierten superfiziellen Zellen gebildet und hemmt die basalen Zellen am Eintritt in die DNS-Synthese-Phase. Diese Chalone wirkt Adrenalin-unabhängig. Eine Adrenalin-abhängige Chalone wird von den Basalzellen produziert und wirkt nicht wie die von den ausdifferenzierten Zellen gebildete auf G_1 -Populationen, sondern hemmt die G_2 -Populationen in der G_2 -Phase am Eintritt in die Mitose. Der Höhepunkt der Adrenalin-Produktion am Morgen und damit das Maximum der Chalone-Produktion würde dann auch das Proliferationsminimum der oralen Mucosa am Tag erklären. Wie bei allen Geweben spielen auch hier Temperatur und Durchblutung eine Rolle bei der Variierung der Wachstumsgeschwindigkeit.

Nach NARENDAR et al. (1965) hat auch der Entzündungsgrad einen Einfluß auf die Proliferationskinetik der Mundschleimhaut. Sie fanden, daß der mitotische Index, i.e. die Zahl der sich teilenden Zellen pro tausend Zellen, im Epithel der entzündeten Gingiva für beide Geschlechter und alle Altersgruppen signifikant höher lag als in normalem Gewebe.

MARWAH et al. (1960) fanden in der Nachbarschaft von chronischen Entzündungen im Bereich der Gingiva des Menschen eine höhere Mitoserate als im normalen Epithel. Unmittelbar über einem chronisch entzündeten Areal fanden sie jedoch nur in ungefähr der Hälfte der Fälle eine erhöhte Mitoserate, wobei diese mit der Stärke der entzündlichen Infiltration korreliert schien, in der anderen Hälfte der Fälle war die Mitoserate normal. Die Autoren führen dies darauf zurück, daß zwar das Epithel auf Entzündungen im darunterliegenden Bindegewebe mit

einer höheren Mitoserate reagiert, daß diese Erhöhung aber durch sekundäre Veränderungen in den Epithelzellen überdeckt werden kann. Zu diesen sekundären Veränderungen gehört vor allem das intrazelluläre Ödem, das man in Entzündungsgebieten findet.

Intrazelluläres Ödem, zunehmende Zellgröße sowie entzündliche Infiltration, die über ein bestimmtes Maß hinausgeht, scheinen die Teilungsfähigkeit der Zellen zu hemmen.

Die Mitoserate in der menschlichen Mundschleimhaut scheint auch vom Alter abzuhängen.

RENSTRUP (1963) konnte dies zwar nicht bestätigen, führte dies aber auf den geringen Umfang seiner Studie zurück. MARWAH et al. (1960) fanden eine mit dem Alter zunehmende Mitoserate und Zelldichte.

NARENDAR et al. (1965) untersuchten die mitotische Aktivität in menschlicher Gingiva, wobei sie zwei verschiedene Altersgruppen unterschieden. In der Gruppe älterer Menschen war die mitotische Aktivität des Mundschleimhautepithels jeweils deutlich höher als diejenige in der jüngeren Vergleichsgruppe.

KARRING (1973) glaubt, daß die oben genannten Ergebnisse darauf zurückzuführen sind, daß die jeweiligen Untersucher bei der Bestimmung der Zelldichte beziehungsweise des Mitoseindex die Zahl der Zellen beziehungsweise der Mitosen auf eine bestimmte Länge der Basalmembran oder auf eine Einheitsfläche im mikroskopischen Präparat beziehen. KARRING hat bei seiner Untersuchung der mitotischen Aktivität im oralen Epithel des Menschen die Zahl der Mitosen auf eine bestimmte Epitheloberfläche bezogen. Mit dieser Methodik war keine Altersabhängigkeit der mitotischen Aktivität beziehungsweise der Zelldichte nachzuweisen.

SQUIER (1976) stellte folgende Altersveränderungen der oralen Mucosa fest:

Das Epithel zeigt zunehmende Atrophie, d.h. es wird insgesamt dünner, aber auch die einzelnen Schichten zeigen uneinheitliche Stärke. Die Zellen und ihre Kerne weisen Polymorphie bezüglich Größe und Form auf. Die Rete-Leisten sind reduziert. Oberflächlich ist das Epithel durch zunehmende Keratinisation gekennzeichnet. Die Behauptung einiger Untersucher, daß die Teilungsrate mit dem Alter zunehme, hält SQUIER nicht für besonders zuverlässig, da hierbei die Mitoserate stets als Anteil der sich teilenden Zellen an einer Gesamtpopulation in einer bestimmten Region ausgedrückt wird, wobei die Atrophie aber unberücksichtigt bleibt. So könnte die erhöhte Mitoserate daher rühren, daß die Mitosephase mit zunehmendem Alter länger dauert, wie auch generell im Organismus mit zunehmendem Alter der Stoffwechsel und damit auch der Gewebsumsatz verlangsamt wird.

Für die Entstehung einer Leukoplakie ist nun nicht allein die Änderung der Proliferationskinetik von Bedeutung, sondern auch eventuelle Störungen im Differenzierungsprozeß des Mundschleimhautepithels. Die Vorstellungen über den Ablauf der normalen Verhornung sind noch immer nicht vollständig. FASSKE et al. (1956/59) haben folgende Vorstellungen über den normalen Ablauf der Verhornung entwickelt:

Als Kristallisationszentren der Verhornung dienen möglicherweise die schon in den Basalzellen, vor allem aber im Stratum spinosum gebildeten Tonofibrillen, die sich aus Tonofilamenten zusammensetzen. Die Tonofilamente bestehen nach elektronenmikroskopischen Unter-

suchungen wiederum aus granulären Strukturen, deren Ursprung unter Umständen in den Mitochondrien zu suchen ist. Dafür spricht die Tatsache, daß die Zahl der Mitochondrien von der Basalzellschicht zur Epitheloberfläche hin abnimmt, während umgekehrt die Zahl der Tonofilamente in gleicher Richtung zunimmt. Elektronenmikroskopisch läßt sich nachweisen, daß die Mitochondrien im Verlauf der Wanderung der Zellen von der Basalmembran zur Epitheloberfläche ihre lamelläre Innenstruktur verlieren und sich ihr Inhalt schließlich nur noch aus globulären Elementen zusammensetzt. Die Außenhülle löst sich schließlich auf und der granuläre Inhalt gewinnt Anschluß an bereits vorhandene Tonofilamente. Die Mitochondrien könnten dann im Stratum granulosum als Keratohyalin granula in Erscheinung treten, welche schließlich durch bisher unbekannte enzymatische Prozesse homogenisiert werden.

Parallel mit dem Verlust der Mitochondrien und damit der zelleigenen Atmungsfermente nimmt im Epithel der oralen Mucosa die Glykogenspeicherung zu. Die Glykogenspeicher werden zur Energiegewinnung durch anaerobe Glykolyse für die Synthese der im Stratum corneum nötigen Disulfidbindungen benutzt.

Die Kenntnis dieser Vorgänge erscheint bedeutsam für die noch zu diskutierende Ätiologie und Pathogenese der Leukoplakien im engeren Sinne.

2.3. Vorstellungen über Ätiologie, Pathogenese und Epidemiologie der Leukoplakien im engeren Sinne:

FASSKE et al. (1956/59) sind der Meinung, daß weitaus die meisten Leukoplakien idiopathischer Natur sind, das heißt, daß die "Leukoplakiekrankheit" eine entsprechende

Disposition voraussetzt. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Leukoplakie das Lebensalter jenseits des 40. Lebensjahres bevorzugt, also dieselbe Periode, in der auch das Mundhöhlenkarzinom bevorzugt auftritt. Dies läßt den Schluß zu, daß es sich bei Mundhöhlenkarzinom und der Leukoplakie um dieselbe Krankheit, aber mit unterschiedlichen Ausdrucksformen, handelt. FASSKE und seine Mitarbeiter halten es für möglich, daß die die Leukoplakie auslösenden Faktoren an den Mitochondrien ihren Angriffspunkt haben, die, wie oben schon erwähnt, eine zentrale Stellung im Differenzierungsprozeß des mehrschichtigen Plattenepithels haben, indem sie unter Umständen das Substrat für den Keratinisierungsprozeß darstellen.

OEHLERT (1970) hält eine Störung des innerepithelialen Regulationsmechanismus durch Karzinogene für das auslösende Moment im Leukoplakiegeschehen.

Die formale Genese einer Leukoplakie läßt sich wie folgt beschreiben. Infolge umschriebener Verdickung des Mundschleimhautepithels unterschiedlicher Ursache kann das in den Gefäßen des subepithelialen Bindegewebes zirkulierende Blut nicht mehr durch das Epithel hindurchschimmern und der betreffende Bezirk nimmt folglich eine weißliche Färbung an (FASSKE et al. 1956/59).

FASSKE, HAHN, MORGENROTH und THEMANN (1959) führen folgende Möglichkeiten für die Verdickung des Epithels an:

- a) Verschieben des Verhältnisses von Zelltod und Zellteilung zugunsten eines Überwiegens des Zellnachschiebs, so daß einfache Epithelhyperplasien entstehen.
- b) Durch verschiedene Einflüsse kann die Verhornungspotenz des Mundschleimhautepithels, die außer am harten

Gaumen und an der Gingiva normalerweise nicht realisiert wird, zum Durchbruch kommen, d.h. es kommt zu einer Hyperkeratose.

- c) Schließlich können Hyperplasie und Hyperkeratose auch gekoppelt zu einer Epithelverdickung führen.
- d) Es können die Zellteilungen im Stratum germinativum nicht nur vermehrt, sondern auch gestört sein, wobei es zum Auftreten polymorpher Zellelemente und atypischer Teilungsfiguren kommt.

Eine andere Erklärung für die Pathogenese der Leukoplakie wäre die, daß durch Karzinogene die ausdifferenzierten superfiziellen Zellen in der Produktion des schon mehrfach genannten Mitosehemmstoffs gestört werden. Dadurch kommt es in der basalen Zellschicht zu einer Vermehrung der DNS-Synthese und Mitosen und somit zu einer basalen Hyperplasie. Gleichzeitig reicht aber die Konzentration des Mitosehemmstoffs, der ja nach basal diffundiert, in den suprabasalen Zellschichten aus, um die DNS-Synthese zu verlangsamen und so eine verstärkte Ausdifferenzierung zu ermöglichen, so daß es gleichzeitig zu einer gesteigerten Verhornung oder überhaupt erst zu einer Verhornung kommt.

Mit der Epidemiologie der Leukoplakien befaßten sich vor allem ESSER und TETSCH (1973).

Sie fanden ein Durchschnittsalter der an Leukoplakie erkrankten Personen von 58,1 Jahre, wobei 60 % der betroffenen Personen Männer waren. Die leukoplakisch veränderten Schleimhautareale wurden vornehmlich an der Wange gefunden, weit weniger häufig an Zunge, Alveolarfortsatz, Gaumen und Mundboden. Die Wangenschleimhaut muß daher als Prädilektionsstelle für Leukoplakien gelten.

2.4. Probleme der Diagnostik der Leukoplakien:

Die Diagnose "Leukoplakie" kann schon auf Grund des klinischen Aspekts gestellt werden, wenn, wie es die Definition der WHO vorsieht, alle anderen Möglichkeiten der Diagnose ausgeschlossen worden sind. Schwierigkeiten bereitet die Zuordnung der Leukoplakien zu den einzelnen Gruppen, vor allem, wenn man von einer anderen als der histologischen Einteilung ausgeht. Die für die Praxis so wichtige Entscheidung, ob eine Leukoplakie der Gruppe der Präkanzerosen zuzuordnen ist oder nicht, ist bis heute am sichersten wohl nur durch die histologische Untersuchung zu fällen, wobei nach KRAMER (1976) selbst dies einer Wettervorhersage gleicht, deren Gültigkeit geringer ist, als man wünschen möchte, und die nur für einen relativ kurzen Zeitabschnitt brauchbar ist.

Als Bedingung für das Zuordnen von Leukoplakien zu den Präkanzerosen gilt das Vorliegen folgender histologischer Kriterien (BANOCZY et al. 1972):

- unregelmäßige Epithelschichtung
- Basalzellhyperplasie
- Verlust der Zellpolarität
- erhöhte Zahl von Mitosen
- anormale Mitosefiguren
- erhöhte Kern-Plasma-Relation
- Kernatypien
- Hyperchromasie

Benutzt man die histologische Einteilung nach FASSKE et al. (1956/59), so müssen alle Leukoplakien, die der

Gruppe IV zugeordnet werden können, als Präkanzerosen gelten, d.h. solche Leukoplakien, die durch eine gestörte Histoarchitektur gekennzeichnet sind.

Nachdem die diagnostische Histopathologie aber subjektiv ist und nicht quantitativ und zum großen Teil von der Erfahrung des Untersuchenden abhängt, wobei sogar erfahrene Pathologen zu verschiedenen Diagnosen kommen können (KRAMER 1975), sucht man schon seit langem nach Methoden, die mit vertretbarem Arbeits- und Zeitaufwand zu mindestens ebenso sicheren Ergebnissen führen wie die diagnostische Histopathologie.

In Anlehnung an die Möglichkeit der zytologischen Untersuchung bei unklaren verdächtigen Veränderungen an der Oberfläche der Portio uteri hat man versucht, die zytologische Diagnostik auch auf die Leukoplakien der Mundschleimhaut auszudehnen. Dabei sind die einzelnen Untersucher allerdings zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen. BANOCZY (1969) berichtet, daß positive zytologische Ergebnisse meist bei erosiver Leukoplakie (90 %) erzielt wurden, während in den Fällen von Leukoplakia simplex oder Leukoplakia verrucosa nach ihrer Einteilung keine vergleichbar guten Ergebnisse vorlagen. In diesen Fällen konnte die Treffsicherheit allerdings durch Mehrfachuntersuchungen in bestimmten Zeitintervallen erhöht werden.

FAUCON et al. (1971) berichten, daß mit Hilfe der Zytologie in einem Prozentsatz von 19 % innerhalb klinisch verdächtiger Läsionen eine maligne Läsion festgestellt wurde, wobei die Diagnose "maligne Entartung" bei Leukoplakien 9 % der Fälle ausmachte. Allerdings hatten die

Untersucher eine relativ hohe Zahl falsch positiver und falsch negativer Ergebnisse zu verzeichnen. Die falsch negativen Ergebnisse werden auf Ungenauigkeiten in der Entnahmetechnik zurückgeführt, die falsch positiven Ergebnisse auf die Tatsache, daß bei Entzündungen und Präkanzerosen ähnliche histologische und zytologische Veränderungen auftreten können. Dieses Problem stellt sich allerdings auch bei der histologischen Diagnostik. FASSKE et al. (1956/59) weisen ebenfalls darauf hin, daß Zell- und Kernatypien im Epithel der Mundschleimhaut sowie vermehrte Mitosebilder sich außer bei Präkanzerosen auch als Reaktion auf einen chronischen subepithelialen Entzündungsprozeß finden, wie er gerade im Bereich der Mundschleimhaut sehr häufig ist. Diese histologischen Veränderungen müssen als die gleichen morphologischen Erscheinungsbilder mit verschiedener kausaler Genese betrachtet werden.

KRÄNZLE et al. (1974) haben ebenfalls die Brauchbarkeit der Zytodiagnostik als Mittel der Malignom-Früherkennung untersucht. Manifeste Malignome zeitigen nur dann positive zytologische Resultate, wenn sie die Oberfläche der Mundschleimhaut erreicht haben, beziehungsweise erosiven Charakter haben. Bei Leukoplakien schreiben die Untersucher der Zytodiagnostik einen gewissen Wert zu, da mit ganz einfachen Hilfsmitteln und ohne große Belastung des Patienten die Veränderungen kontrolliert werden können, und eine beginnende maligne Entartung mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit entdeckt werden kann. Allerdings muß auch unter optimalen Bedingungen mit einem kleinen Prozentsatz falsch negativer Befunde gerechnet werden.

DABELSTEEN, ROED-PETERSEN, SMITH und PINDBORG (1971) geben

eine weitaus vorsichtigere Beurteilung der Zytodiagnostik im Rahmen der Entdeckung epithelialer Atypien bei oralen Leukoplakien ab. Bei alleiniger Anwendung der exfoliativen Zytologie kamen sie in 62 % der Fälle, die histologisch eine epitheliale Atypie zeigten, zu einer falsch negativen Diagnose. Die exfoliative Zytologie war außerdem nicht in der Lage, die Fälle epithelialer Atypie aufzudecken, die durch klinische oder histologische Untersuchung übersehen wurden. Die Untersucher halten die Exfoliativzytologie für die Entdeckung von Epithelatypien nur in den Fällen für erfolgreich, wo die Oberfläche der Läsion entweder ulzeriert oder nicht keratinisiert ist.

Andere Untersuchungen haben sich mit der Brauchbarkeit von DNS-Messungen in der Diagnostik der präkanzerösen Leukoplakien befaßt.

PAPE et al. (1975) kamen bei der quantitativen Erfassung der DNS durch photometrische Messungen zu folgenden Ergebnissen:

Bei der Mehrzahl der Tumoren treten polyploide Zellkerne auf, außerdem sind die Streuungen im DNS-Gehalt bei Tumoren, v.a. bei undifferenzierten, größer als im Normalgewebe. Während bei bereits voll entwickelten Tumoren die DNS-Bestimmung offensichtlich zu positiven Ergebnissen führt, sind die Unterschiede zwischen Normalgewebe und präkanzerösen Leukoplakien vermutlich nicht so deutlich, obwohl die Untersucher bei präkanzerösen Leukoplakien auch Abweichungen von normalen diploiden Werten beobachtet haben. PFITZER und PAPE (1975) billigen der Bestimmung des DNS-Gehalts von Zellkernen durch die zytophotometrische Methode zur Differenzierung benigner und präkanzeröser Leukoplakien auch keine höhere Reliabilität zu,

als der Bestimmung anderer Parameter.

EHLERS (1971) kommt für den Bereich der Haut-Präkanzerosen zu einer optimistischeren Beurteilung der Bestimmung des DNS-Gehalts zum Zwecke einer Diagnostik der Präkanzerosen. Er konnte für Haut-Präkanzerosen eine hochsignifikante Zunahme der DNS-Streuung und des mittleren DNS-Gehalts gegenüber gesundem Gewebe nachweisen. Die DNS-Ausstattung von Haut-Präkanzerosen gleicht in ihrer Verteilung und in ihrem Mittelwert nach den Untersuchungen von EHLERS derjenigen von bereits manifesten Malignomen.

Einen völlig anderen Weg beschritt LEHNER (1971), der untersuchte, ob eine Korrelation zwischen der Dichte der entzündlichen Infiltration in leukoplakischen Geweben, gleich welcher Genese, und ihrer Zugehörigkeit zu einer der diagnostischen Gruppen besteht. Er vertritt die Ansicht, daß es durch Dichtebestimmungen der Rundzellinfiltrate in Arealen mit leukoplakischen Veränderungen oder Candida-Infektion oder oralem Lichen planus möglich ist, die einzelnen Probanden den entsprechenden Diagnosegruppen zuzuordnen. Im Falle der präkanzerösen Leukoplakie ist eine solche Zuordnung allerdings nicht möglich, da sich die präkanzerösen Leukoplakien nach seinen Untersuchungen in der Dichte der Rundzellinfiltrate im Mittel von einem Karzinom nicht unterscheiden. Dagegen konnte er auf Grund von Nachuntersuchungen über maximal 6 Jahre hinweg feststellen, daß jene Leukoplakien maligne entarteten, bei denen man im Vorstadium eine Rundzelldichte größer 100 pro mm² festgestellt hatte.

Andere Untersuchungen laufen darauf hinaus, durch den Nachweis eventueller Unterschiede in den Mitoseraten normaler und leukoplakisch veränderter Mundschleimhaut neue diagnostische Möglichkeiten zu entwickeln. So

fanden EL LABBAN, LUCAS und KRAMER (1971), daß die Mittelwerte der Mitoseraten im Stratum spinosum und Stratum basale bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % in der Gruppe der Keratosen und Leukoplakien signifikant verschieden waren. Für die mitotische Aktivität von präkanzerösen Leukoplakien fanden die meisten Untersucher bisher jedoch keinen deutlichen Unterschied im Vergleich zu anderen Leukoplakien.

So ergaben sich auch in der Untersuchung von PRANTL (1977) keine signifikant verschiedenen H3-Indizes bei traumatisch-irritativen Leukoplakien und gesunder Mundschleimhaut.

Nach FABRICANT (1969) ist nicht einmal im manifesten Tumor die Proliferation erhöht, also auch nicht der Mitoseindex oder der H3-Index. Nachdem, wie oben bereits erwähnt, Präkanzerosen und Tumoren in vielen wichtigen Parametern übereinstimmen, ist es unwahrscheinlich, daß sie in ihrem Proliferationsverhalten voneinander abweichen.

KLEIN-SZANTO, BANOCZY und SCHROEDER (1976) untersuchten das Differenzierungsmuster von Leukoplakien im Vergleich zu normaler Mundschleimhaut anhand stereologischer Studien elektronenmikroskopischer Aufnahmen von Mundschleimhautpräparaten. Leider haben sie in ihrer Arbeit die Präkanzerosen nicht gesondert berücksichtigt. Dennoch scheint uns die von ihnen durchgeführte Untersuchung bedeutsam, da eventuelle Unterschiede im Differenzierungsmuster von Leukoplakien und normaler Mundschleimhaut sich in weiteren Untersuchungen unter Umständen auch für Leukoplakien allgemein und präkanzeröse Leukoplakien im besonderen bestätigen lassen.

Die Verfasser fanden ein völlig verschiedenes Verhalten

der Ultrastrukturen in Leukoplakien und normaler Mundschleimhaut.

Im Falle der Leukoplakien nehmen Kerndichte, Volumenanteil der Mitochondrien sowie membrangebundene Organellen von der Basalzellschicht zur Stachelzellschicht ab, während die Filamentbündel zunehmen.

Freie Ribosomen bleiben außer im Stratum granulosum bezüglich ihres Volumenanteils konstant, ebenso die zytoplasmatische Grundsubstanz mit Ausnahme im Stratum basale, wo sie extrem niedrig ist.

Der Interzellularraum ist von extrem geringer Dichte.

Im normalen Epithel ändern sich nach dieser Untersuchung die einzelnen Parameter nicht so kontinuierlich wie im leukoplakischen Gewebe, sondern eher sprunghaft.

Daneben fanden die Untersucher, daß das normale Epithel eine extrem niedrige Dichte an zytoplasmatischer Grundsubstanz hat, sowie im Gegensatz zu den Leukoplakien eine große Menge von Filamenten zwischen mittlerem Stratum spinosum und der Epitheloberfläche. Der Interzellularraum ist vergleichsweise groß.

Während Filamente bei leukoplakischer Mucosa nur in Form von Bündeln vorkommen, finden sich im normalen Gewebe außerdem noch einzelne Filamente, die ein Netzwerk bilden, dessen Anteil zur Oberfläche des Epithels hin wächst.

Wie gesagt, konnten die Untersucher bisher noch nicht über ultrastrukturelle Besonderheiten von präkanzerösen Leukoplakien im Vergleich zu den übrigen Leukoplakien berichten.

Auch von anderer Seite wurden elektronenoptische Untersuchungsergebnisse gemeldet, die die Frage nach einem besonderen Merkmal malignen Potentials klären sollen.

CAHN et al. (1962), DICK et al. (1970) sowie DOYLE et al. (1968) sahen im Fehlen von Glykogen Merkmale eines malignen Potentials.

MATSUMARA und KAWAKATSU (1972) fanden positive alkalische Phosphate - und Amino-peptidaseaktivität im Stroma und meinten, daß der Grad des malignen Potentials von diesen Stromareaktionen abhängt.

Nach ANDRÄ (1973) gestatten sowohl zytologische, histochemische als auch elektronenoptische Untersuchungen bisher keine sichere Aussage über eine mögliche potentielle Malignität eines Gewebes.

Aber auch die histologische Untersuchung ist keine zufriedenstellende Methode zur Erkennung von Präkanzerosen, zum einen auf Grund der Ähnlichkeit der zytologischen und histologischen Veränderungen bei präkanzerösen und entzündlichen Läsionen (FASSKE et al. 1956/59), zum anderen auf Grund der Einschränkung der Aussagemöglichkeiten durch mögliche Fehler in der Entnahme. Nach CAWSON (1975) sind die Foki atypischer Epithelien innerhalb einer Leukoplakie oft so klein (5 mm und kleiner), daß sie einer Biopsie meist entgehen.

Weiter ist, wie schon einmal erwähnt, zu bedenken, daß die diagnostische Histopathologie subjektiv und nicht quantitativ ist und zu einem großen Teil von der Erfahrung des Untersuchenden abhängt.

Man könnte also die Treffsicherheit der histologischen Diagnostik unter Umständen erhöhen, wenn es gelänge, eine höhere Objektivität zu erzielen.

Als ein Vorstoß in diese Richtung darf eine Untersuchung von KRAMER (1975) gewertet werden.

Die Grundlagen hierfür wurden bereits 1969 von KRAMER und KRAMER sowie 1970 von LUCAS, EL LABBAN und LISTER gelegt, die durch diskriminative Computer-Analysen den histologischen Kriterien der Leukoplakien eine bestimmte Wertigkeit zuordneten. Gewissermaßen als Nebenprodukt konnte hierbei ein bisher kaum berücksichtigtes Kriterium als für die maligne Transformation wichtig identifiziert werden, nämlich die Existenz von Russel-bodies im Infiltrat. KRAMER ließ den Pathologen wie bisher untersuchen, doch konnte dieser zu jedem Parameter nur eine Entscheidung mit "ja" oder "nein" oder mit Zahlen treffen. Diese Parameter waren in einem festen Fragenplan enthalten. Durch diskriminative Analyse wurde wiederum den einzelnen Parametern vom Computer eine bestimmte Wertigkeit zugeordnet. Dann teilte der Computer das Untersuchungsmaterial in "Cluster" ein, das heißt in Gruppen, die in den untersuchten Parametern eng beieinanderliegen. Aus dem Abstand eines Probanden in der einen Gruppe (in diesem Fall: benigne Leukoplakien) zur Position desselben Probanden in der anderen Gruppe (in diesem Fall: Karzinome) konnte in der vorliegenden Studie mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % auf die Tendenz zur malignen Entartung geschlossen werden.

In diese Richtung zielt auch die vorliegende Arbeit, die untersuchen soll, ob durch quantitative Bestimmung der Zelldichte in Leukoplakien unter Umständen Aussagen über deren malignes Potential gemacht werden können.

Außerdem könnte die Arbeit einen Beitrag zum Verständnis der Pathogenese der Leukoplakien leisten, da in diesem Zusammenhang bisher zwar Mitoseindizes und Zelldichten in ihrer wechselseitigen Abhängigkeit, nicht aber Zelldichten isoliert mit den entsprechenden Fragestellungen untersucht worden sind.

3. FRAGESTELLUNG

- 3.1. Bestehen Unterschiede in der Zelldichte zwischen Leukoplakien, gleich welcher Genese, und normaler menschlicher Mundschleimhaut?
- 3.2. Bestehen Unterschiede bezüglich der Zelldichte gesunder menschlicher Mundschleimhaut und präkanzeröser Leukoplakien?
- 3.3. Bestehen Unterschiede bezüglich der Zelldichte normaler menschlicher Mundschleimhaut und endogen-irritativer Leukoplakien (am Beispiel des Lichen ruber planus)?
- 3.4. Bestehen Unterschiede bezüglich der Zelldichte gesunder menschlicher Mundschleimhaut und exogen-irritativer Leukoplakien?
- 3.5. Bestehen Unterschiede in der Zelldichte präkanzeröser und endogen-irritativer Leukoplakien (letzteres wieder am Beispiel des Lichen ruber planus)?
- 3.6. Bestehen Unterschiede in der Zelldichte präkanzeröser und exogen-irritativer Leukoplakien?
- 3.7. Bestehen Unterschiede in der Zelldichte exogen-irritativer und endogen-irritativer Leukoplakien (letzteres wieder am Beispiel des Lichen ruber planus)?
- 3.8. Läßt sich ein Zusammenhang zwischen der Zelldichte und dem Keratinisierungsgrad leukoplakisch veränderten Gewebes sichern?
- 3.9. Ist ein Zusammenhang zwischen dem Lebensalter der betreffenden Probanden und jeweiligen Zelldichten leukoplakischer Mundschleimhaut - getrennt nach Geschlechtern und Diagnosegruppen der Leukoplakien - feststellbar?

4. MATERIAL UND METHODIK

4.1. Das Biopptische Material:

Zur Untersuchung gelangten Stanzbiopsien aus der Mundschleimhaut von Patienten, bei denen leukoplakische Veränderungen festgestellt worden waren. Die Biopsien wurden mit einer Stanze von 6 mm Durchmesser in der Zeit von August 1974 bis August 1975 in der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkranke der Universität Erlangen-Nürnberg entnommen.

Die Entnahme erfolgte stets zur gleichen Tageszeit, zwischen 10 Uhr und 12 Uhr, um den möglichen Einfluß eines circadianen Proliferationsrhythmus auf die Zelldichte auszuschalten.

Neben einer Biopsie der leukoplakisch veränderten Mucosa konnte in vielen Fällen auch eine Gewebprobe entsprechender gleichseitiger Lokalisation gewonnen werden. Eine vergleichbare Lokalisation ist deshalb von Bedeutung, weil die Mundschleimhaut nicht überall die gleiche Proliferationskinetik aufweist.

Nach SQUIER, JOHNSON und HOPPS (1976) kann man die Mundschleimhaut in drei nach Proliferationskinetik und Differenzierung verschiedene Typen einteilen:

- die einfach auskleidende Mucosa,
- die Mucosa der Kauregionen,
- die speziell modifizierte Mucosa.

Die regionale Verteilung dieser drei Schleimhauttypen in der Mundhöhle zeigt Abb. Nr. 2 a/b. Die Zahlen in Klammern geben die Anzahl der von uns aus den jeweiligen Regionen untersuchten Schleimhautexcisate an. Daraus geht hervor, daß 65 Präparate der Wangenschleim-

haut, 7 der Zungenschleimhaut, 6 dem Mundboden und je 5 dem harten Gaumen und dem Alveolarfortsatz entstammten.

Abb. Nr. 2 a: Verteilung von mastikatorischer, einfach auskleidender und spezialisierter Mucosa in der Mundhöhle, modifiziert nach ROED-PETERSEN und RENSTRUP (1969). Die Zahlen in Klammern geben die Anzahl der von uns aus den jeweiligen Regionen untersuchten Schleimhautexcisate an.

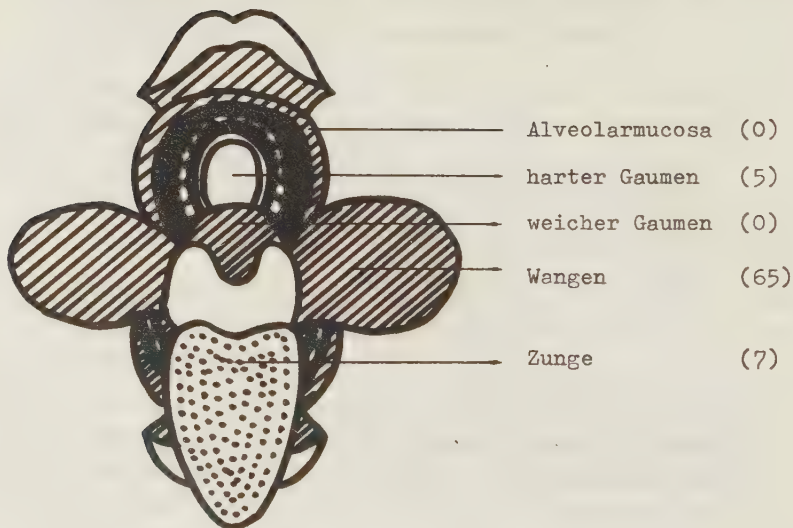
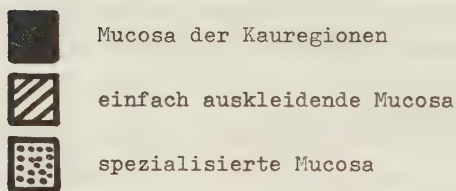
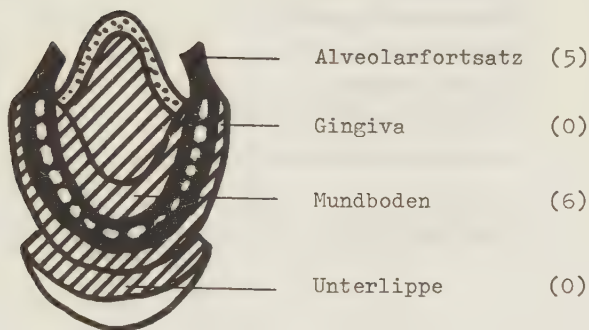


Abb. Nr. 2 b: Verteilung von mastikatorischer, einfach auskleidender und spezialisierter Mucosa in der Mundhöhle modifiziert nach ROED-PETERSEN und RENSTRUP (1969). Die Zahlen in Klammern geben die Anzahl der von uns aus den jeweiligen Regionen untersuchten Schleimhautexcisate an.



Von den Biopsien wurden dann möglichst senkrecht zur Schleimhautoberfläche Serienschnitte von durchschnittlich 5 μ m Dicke hergestellt.

Tab. Nr. 1: Lokalisation der untersuchten Schleimhautexcisate in der Mundhöhle.

Wangenschleimhaut	65
Zungenschleimhaut	7
Mundbodenschleimhaut	6
harter Gaumen	5
Alveolarfortsatz (zahnlos)	5

Summe	88
-------	----

4.2. Das Patientengut:

Zur Untersuchung gelangten 88 Biopsien mit leukoplakischen Veränderungen, die sich wie folgt zusammensetzten:

Tab. Nr. 2: Zusammensetzung des untersuchten Patientenguts.

männliche	weibliche	Summe	Bezeichnung
8	4	12	prim.präkanzeröse Leukoplakie
5	15	20	endogen-irritative Leukoplakie
41	15	56	exogen-irritative Leukoplakie
55	34	88	Summe

Von 49 Patienten konnte zum Vergleich eine gesunde Schleimhautprobe entsprechender Lokalisation gewonnen werden. Diese Biopsien setzen sich wie folgt zusammen:

Als Vergleich zu den primär präkanzerösen Leukoplakien

standen 7 gesunde Schleimhautbiopsien zur Verfügung, davon 4 männlicher und 3 weiblicher Herkunft. Von den Patienten mit Lichen ruber planus als Beispiel für endogen-irritative Leukoplakien erklärten sich 12 bereit, auch im gesunden Gewebe eine Stanzbiopsie durchführen zu lassen, davon waren 2 Männer und 10 Frauen.

Am meisten Vergleichsmaterial liegt für die exogen-irritativen Leukoplakien vor, nämlich 30 Gewebeproben gesunder Mucosa, wovon 22 männlichen und 8 weiblichen Ursprungs sind.

Insgesamt waren leider nur 28 Männer und 21 Frauen mit der Entnahme von gesundem Gewebe einverstanden.

Die Verteilung der Patienten auf die verschiedenen Altersstufen zeigt Tab. Nr. 3.

Tab. Nr. 3: Verteilung der Leukoplakie-Patienten auf die verschiedenen Altersstufen.

Altersklasse	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69
Häufigkeit	11	17	18	18	17
Altersklasse	70-79	80-89	90-99		
Häufigkeit	6	0	1		

Die Tabelle zeigt, daß die meisten Patienten zwischen 30 und 70 Jahre alt waren.

4.3. Verteilung der verschiedenen Leukoplakien im Untersuchungsgut:

Von den untersuchten Leukoplakien wurden

12 als präkanzeröse,

20 als endogen-irritative (Lichen ruber planus) und

56 als exogen-irritative Leukoplakien diagnostiziert.

Diese Diagnosen wurden zunächst auf Grund des klinischen Aspekts gestellt und dann histologisch gesichert.

4.4. Bestimmung der Zelldichten:

4.4.1. Gemessene Parameter:

Gemessen wurden:

a) die Zellzahl und

b) die dazugehörige Fläche.

Aus diesen Werten wurde die Zelldichte bestimmt, die hier als die Anzahl der Zellkerne pro untersuchter Fläche im mikroskopischen Präparat definiert sei.

Zur Flächenmessung noch eine Vorbemerkung:

In leukoplakisch veränderter oraler Mucosa findet man zwei verschiedene Formen der Keratinisierung vor, die (Hyper)orthokeratose, die durch ein stark ausgeprägtes Stratum corneum ohne Zellkerne gekennzeichnet ist, und die (Hyper)parakeratose, bei der bis zur Epitheloberfläche Kerne, wenn auch zum Teil pyknotische, vorkommen. Kerne können also in einem (hyper)orthokeratotischen Epithel bis einschließlich des Stratum granulosum, in einem (hyper)parakeratotischen Epithel bis hinauf zur Epitheloberfläche gezählt werden. Um die Zelldichte in (hyper)parakeratotischer Mucosa zu bestimmen, muß

folglich die Größe der untersuchten Fläche bis hinauf zur Epitheloberfläche bestimmt werden, während bei der Zelldichtenbestimmung in (hyper)orthokeratotischer Mucosa lediglich die Fläche bis einschließlich des Stratum granulosum bestimmt wird, d.h. die Hornschicht geht nicht in die Flächenberechnung ein. Dies ist insofern sinnvoll, als die ermittelte Zelldichte dann nur noch vom proliferativen Verhalten des Epithels einerseits und von der Größe der Zellen andererseits abhängt.

Der Verhornungsgrad und ein eventueller Zusammenhang mit der Zelldichte wurden später gesondert untersucht.

Ausgezählt wurden die Zellkerne über eine Fläche von durchschnittlich $49.920 \mu\text{m}^2$. Dann wurde die Zahl der auf der jeweiligen Fläche im mikroskopischen Präparat ausgezählten Kerne auf eine Einheitsfläche von $10.000 \mu\text{m}^2$ bezogen.

Der so erhaltene Wert ging in die statistische Auswertung ein.

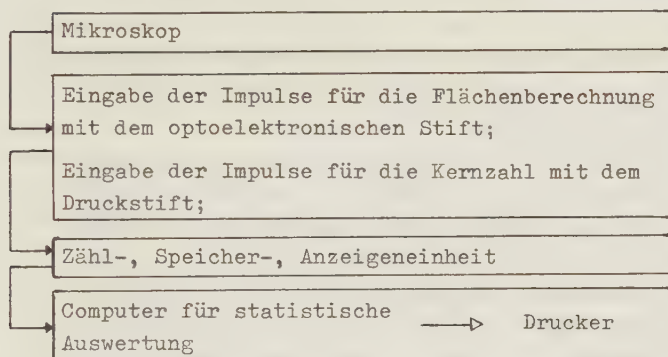
4.4.2. Bestimmung der Fläche:

Die Meßanordnung bestand aus einem Lichtmikroskop mit Zeichentubus und einem M.O.P.-System (M.O.P. = Manuell optischer Bildanalysator). Der M.O.P. ist ein elektronisches Zähl- und Speichersystem zur quantitativen Analyse licht- und elektronenmikroskopischer Bilder. Der Zeichentubus ermöglicht eine Auswertung der einzelnen Stichproben direkt am mikroskopischen Bild.

Das M.O.P.-System setzt sich zusammen aus einer elektronischen Zähl- und Speichereinheit, einer Gitter-

platte und einem druck- oder optoelektronischen Stift. Zusätzlich benötigt man einen speziellen Leuchtkasten mit drehbarem Rundtisch, auf den die M.O.P.-Gitterplatte montiert wird, um die Gitterlinien sichtbar zu machen.

Abb. Nr. 3: Meßanordnung zur Zelldichtenbestimmung mit dem M.O.P.-System.



Normalerweise dient das M.O.P.-System dazu, mit Hilfe des optoelektronischen Stifts die zu untersuchenden Strukturelemente auf der Gitterplatte entweder den Konturen entlang abzufahren (Bestimmung der Oberflächendichte = Oberfläche einer Struktur bezogen auf das Einheitsvolumen eines Objekts) oder die Anzahl der Strukturanschnitte zu markieren (Bestimmung der numerischen Dichte = Anzahl der Anschnitte der Struktur im Gewebsschnitt bezogen auf das Einheitsvolumen des untersuchten Objekts) oder innerhalb des Strukturanschnitts die Führungslinien entlangzufahren (Bestimmung der Punktdichte zur Berechnung von Volumen-

dichten = Anteil des Volumens einer Struktur am Einheitsvolumen des untersuchten Objekts).

Die letztgenannte Methode haben wir für unsere Zwecke etwas modifiziert, um mit ihr die Fläche im Präparat möglichst exakt bestimmen zu können, in der wir die Kerne auszählten.

Nach GLAGOLEFF (1932) kann durch Messung der Punktzahl über einer Struktur auf die Flächendichte rückgeschlossen werden, wenn die Punkte in Form eines regelmäßig angeordneten Punktnetzes (Raster) verteilt sind.

Ein solches Punktnetz liegt in Form der Gitterplatte des M.O.P.-Systems vor.

Auf der Platte sind äquidistante, hochreflektierende, 0,25 mm breite Linien aufgedampft. Der Linienabstand betrug bei der von uns verwendeten Platte $100/32$ mm. Das Meßfeld ist dadurch gegeben, daß 90° zu dem Feld reflektierender Linien ein gleiches Feld von Führungslinien angeordnet ist, so daß sich ein Quadratlinienraster ergibt.

Bringt man die Gitterplatte auf einen Leuchtkasten, so erscheinen die Führungslinien weiß auf schwarzem Grund. Sie werden vom Zeichentubus in das mikroskopische Zwischenbild eingespiegelt. Der Beobachter sieht also im Binokulartubus das Bild seines Präparates mit einem feinen weißen Linienraster überlagert. Entlang diesem Linienraster wird nun der optoelektronische Stift innerhalb der zu messenden Fläche geführt. Dabei ist das Schattenbild der Stiftspitze gut erkennbar. Kleinere Führungsungenauigkeiten, die hierbei auftreten, mitteln sich statistisch heraus.

Die beim Überfahren der reflektierenden Linien entstehenden Impulse werden an das Speicher- und Rechensystem weitergegeben und dort wird normalerweise mit Hilfe eines entsprechenden Programms von der Punktdichte der Struktur im mikroskopischen Bild auf die Volumendichte geschlossen und bei Kenntnis des Gesamtvolumens des untersuchten Objekts das absolute Volumen der Struktur bestimmt.

Für uns war jedoch nur die Anzahl der in einer Photozelle des optoelektronischen Stifts ausgelösten Impulse von Bedeutung, die bei Überfahren der Testpunkte mit dem optoelektronischen Stift innerhalb der zu messenden Fläche an die Recheneinheit weitergegeben wurden. Bei Kenntnis der Strecke zwischen den einzelnen Rasterpunkten kann man aus der Zahl der überfahrenen Rasterpunkte die Länge der abgefahrenen Strecke auf der Führungslinie berechnen (der Linienabstand betrug bei der von uns verwendeten Platte 100/32 mm).

Projiziert man das Raster so auf das histologische Präparat, daß seine Seitenkanten senkrecht zu Basalmembran und Epitheloberfläche verlaufen, wobei die Seitenkanten Führungslinien darstellen sollen, und führt man die Führungslinien dann mit Hilfe des optoelektronischen Stifts zwischen Basalmembran und Epitheloberfläche im Falle eines parakeratotischen Epithels bzw. zwischen Basalmembran und oberer Grenze des Stratum granulosum im Falle eines orthokeratotischen Gewebes ab, so erhält man für jede Führungslinie eine bestimmte abgefahrne Länge, die sich aus der Zahl der überfahrenen Testpunkte ergibt. Die Summe der Längen dieser abgefahrenen Führungslinien multipliziert mit

dem Abstand der Führungslinien voneinander ($= 100/32$ mm) ergibt bei Berücksichtigung der Verkleinerung des Gitters durch die Projektion über den Zeichentubus auf das mikroskopische Präparat einerseits, sowie der am Mikroskop eingestellten Vergrößerung und der Zwischenvergrößerung andererseits, die reale Fläche im mikroskopischen Präparat.

Dabei wurde die Verkleinerung, die das Raster bei der Projektion erfährt, mit Hilfe eines auf dem Objektträger eingravierten Vergleichsmaßstabes errechnet.

Abb. Nr. 4 a, b und c zeigen die in der Mundhöhle vorkommenden Epitheltypen:

- das nicht keratinisierte,
- das orthokeratinisierte
- und das parakeratinisierte Epithel.

Die letzten beiden Epitheltypen werden in leukoplakisch veränderter Mucosa angetroffen, nur unter Umständen verstärkt, d.h. Hyperortho- bzw. Hyperparakeratose.

Um den Einfluß der variierenden Dicke der Hornschicht in den einzelnen Präparaten auf die Zelldichte auszuschalten, durfte, wie schon gesagt, die Fläche im hyperorthokeratotischen Epithel nur hinauf bis zum Stratum granulosum, im hyperparakeratotischen Epithel dagegen bis hinauf zur Epitheloberfläche bestimmt werden.

In den Abbildungen Nr. 4 a und b sind die Projektion des Rasters und die Flächenbestimmung skizziert.

Die zwischen den Seitenkanten des mit seinen Führungslinien senkrecht zur Basalmembran auf das mikroskopische Präparat projizierten Rasters liegende Fläche der abgebildeten Epithelien ergibt sich wie folgt:

Summe der überfahrenen Testpunkte (= Maß für die Länge

der abgetasteten Führungslinien) multipliziert mit dx (= Abstand der Führungslinien voneinander) ergibt die auf der Gitterplatte abgefahrene Fläche.

In diesen Wert müssen dann noch die Verkleinerung des Gitters durch den Zeichentubus sowie die am Mikroskop gewählte Vergrößerung und die Zwischenvergrößerung eingehen, und man erhält die reale Fläche im mikroskopischen Präparat.

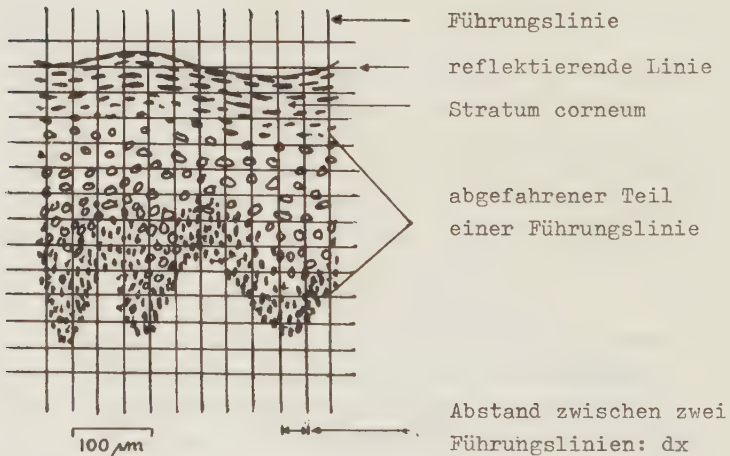
Die von uns gewählte Vergrößerung am Mikroskop war 25-fach.

Abb. Nr. 4 a: - Orthokeratinisiertes Epithel des harten Gaumens; es findet sich ein gut ausgeprägtes Stratum granulosum.

- Veranschaulichung der Flächenberechnung mit dem M.O.P.-System:

Die zwischen den Seitenkanten des Rasters liegende Fläche des unten abgebildeten Epithels ergibt sich wie folgt:

Summe der überfahrenen Testpunkte bis jeweils einschließlich des Stratum granulosum (= Maß für die Länge der abgetasteten Führungslinien) multipliziert mit dx (= Abstand der Führungslinien voneinander).



- Abb. Nr. 4 b:
- Parakeratinisiertes Epithel der Gingiva; eine Granulosazellschicht ist nicht deutlich zu differenzieren; pyknotische Kerne finden sich bis zur Epitheloberfläche hin.
 - Veranschaulichung der Flächenberechnung mit dem M.O.P.-System:

Die zwischen den Seitenkanten des Rasters liegende Fläche des unten abgebildeten Epithels ergibt sich wie folgt:

Summe der überfahrenen Testpunkte von der Basalmembran bis jeweils zur Epitheloberfläche (= Maß für die Länge der abgetasteten Führungslinien) multipliziert mit dx (= Abstand der Führungslinien voneinander).

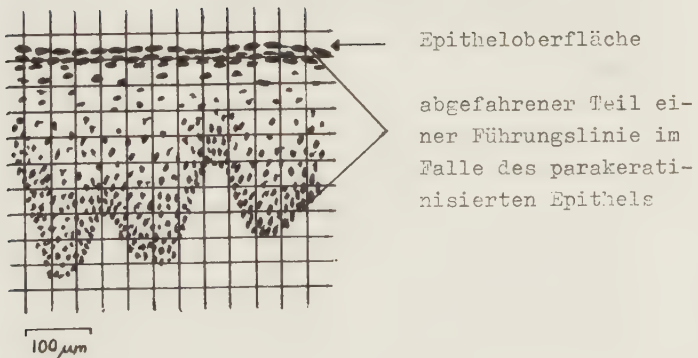
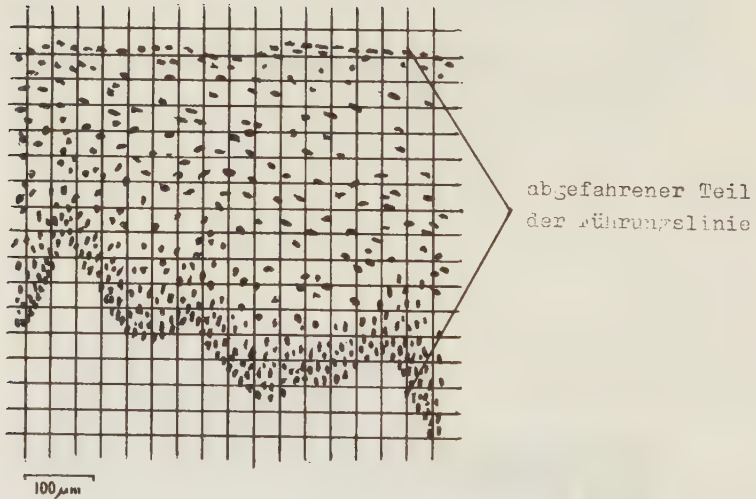


Abb. Nr. 4 c: Nicht keratinisiertes Epithel von der Wange; das Epithel ist dicker als jenes in a) oder b) und zeigt Kerne bis zur Epitheloberfläche hin.



4.4.3. Bestimmung der Kernzahl:

Bei der Bestimmung der Kernzahl mit Hilfe des Mikroskops wählten wir die fünfundzwanzigfache Vergrößerung, weil dadurch einerseits die eng aneinanderliegenden Zellen des Stratum basale gut zu differenzieren waren, andererseits auch das Raster für die elektronische Flächenberechnung, die im vorangegangenen Abschnitt erläutert wurde, die ganze Epitheldicke erfaßte und so in einem Arbeitsgang Fläche und Kernzahl ermittelt werden konnten.

Ausgezählt wurde nur in gut angefärbten, durch Schnitt oder Fixierung nicht beschädigten, sowie nicht mit Drüsenausführungsgängen durchsetzten Arealen. Schnitte, in denen sich quergeschnittene Ausführungsgänge von Drüsen fanden, wurden verworfen, da man hier keinen zur Epitheloberfläche senkrecht verlaufenden Schnitt annehmen durfte.

Die Rasterfläche wurde bei der Untersuchung so auf das Epithel projiziert, daß die Seitenkanten des Rasters annähernd senkrecht auf der Basalmembran standen und auch senkrecht zur Epitheloberfläche verliefen. Daher war es nötig, Epithelabschnitte im Präparat auszuwählen, in denen die Basalmembran und die Epitheloberfläche annähernd parallel verliefen. Nur so schien es uns gewährleistet, daß alle Zellkerne führenden Epithelschichten gleichermaßen berücksichtigt wurden.

Bei der Auszählung eines Areals zwischen zwei Bindegewebspapillen, wo man das Raster mit seinen Seitenkanten entweder senkrecht zur Basalmembran oder senkrecht zur Epitheloberfläche einstellen kann, nicht aber beides gleichzeitig, werden im ersten Fall die kernreichen basalen Schichten, im zweiten Fall die

kernärmeren oberen Schichten relativ stärker berücksichtigt, und man erhält so ein verzerrtes Bild der Zelldichte.

Auf Grund der genannten Einschränkungen verblieb in einem Präparat in der Regel nur noch ein kleines Areal, das man auswerten konnte, ohne von vornherein offensichtliche Verfälschungen in Kauf zu nehmen. Es hatte eine durchschnittliche Größe von $49.920 \mu\text{m}^2$. In diesem verbleibenden Areal wurden die Kerne ausgezählt. Dabei wurden nur intakte Zellkerne berücksichtigt, unberücksichtigt blieben Kerne, die bereits Zeichen der Karyorhexis oder Karyolyse zeigten.

Im einzelnen verlief die Kernzahlbestimmung folgendermaßen:

Mit Hilfe des Druckstifts wurde in der vorher bestimmten Fläche durch Drücken des Stifts bei jedem gezählten Kern ein Impuls ausgelöst und an die Speichereinheit weitergegeben, die die einzelnen Impulse aufsummierte.

Dazu war es nötig, bis zur Kernzählung die Grenzen der vorher bestimmten Fläche zu fixieren. Dabei kam uns die vorher beschriebene Art der Projektion des Rasters auf das Präparat zugute, indem die äußersten Führungslinien des Rasters die Seitenbegrenzung, Basalmembran und Epitheloberfläche im Falle einer (Hyper)parakeratose, bzw. obere Grenze des Stratum granulosum im Falle einer (Hyper)orthokeratose, die untere bzw. obere Begrenzung der gemessenen Fläche darstellten. Dadurch war eine reproduzierbare Fläche für die Zellkernzählung festgelegt.

Um bei der Zählung eine möglichst hohe Genauigkeit zu erzielen, wurden die Zellkerne spaltenweise ausgezählt, und zwar zwischen der 1. und 4., der 4. und

7., der 7. und 10. Führungslinie usw., wobei die jeweils dazwischenliegenden zwei Führungslinien auf der Gitterplatte abgedeckt wurden, wodurch einerseits die Zählung der Kerne durch das darüberliegende Raster nicht allzusehr behindert wurde, andererseits die gesamte auszuzählende Fläche in relativ kleine Areale zerlegt wurde, in denen die Zellkerne leicht zu überblicken waren, was eine Erhöhung der Zählgenauigkeit mit sich brachte.

4.4.4. Untersuchung der Abhängigkeit der Kerndichte vom Keratinisierungsgrad des Epithels:

Um den Zusammenhang zwischen der Zelldichte und dem Keratinisierungsgrad in leukoplakisch veränderter Mundschleimhaut feststellen zu können, mußte zunächst ein Maß für den Verhornungsgrad des Epithels festgelegt werden. Als Maß wählten wir den Anteil der Dicke der Hornschicht an der Gesamtdicke des Epithels im histologischen Präparat.

Beide Parameter wurden mit Hilfe eines Schraubenmikrometerokulars bestimmt, wobei in unseren Präparaten die Absolutwerte für die Epitheldicke zwischen $20\mu\text{m}$ und $192\mu\text{m}$, diejenigen für die Dicke des Stratum corneum zwischen $0\mu\text{m}$ und $160\mu\text{m}$ schwankten. Bei der Bestimmung der Epitheldicke wurde einheitlich der Abstand zwischen Papillenspitze und Epitheloberfläche gemessen.

Die genannten Parameter wurden für alle 88 zur Zelldichtenbestimmung gelangten Leukoplakie-Präparate ermittelt, wobei 72 Präparate (Hyper)orthokeratose und 16 Präparate (Hyper)parakeratose zeigten.

Sodann wurde der Quotient aus der Dicke der Hornschicht und der Dicke des gesamten Epithels errechnet. Die so erhaltenen Werte wurden anschließend mit den zuvor bestimmten Zelldichten der entsprechenden Präparate mit Hilfe eines Computers einer Regressions-Korrelations-Analyse unterzogen.

5. ERGEBNISSE

5.1. Gewonnenes Zahlenmaterial:

Die oben näher erläuterten Untersuchungen lieferten folgendes Zahlenmaterial:

Tab. Nr. 4: Gegenüberstellen von Zelldichten in Leukoplakien verschiedener Genese und Zelldichten in normaler Mucosa, sofern letztere gewonnen werden konnte.

	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche/ leukopl. Mucosa	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche gesunder Mucosa glei- cher Lokali- sation
präkanz. Leuko- plakien	25.9 n=12 38.8 46.6 69.2 65.5 34.9 25.8 54.5 44.5	29.2 n=7 36.0 27.1 37.6 27.0 19.3 42.6 - -

Tab. Nr. 4 (Fortsetzung):

	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche leukopl. Mucosa	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche gesunder Mucosa glei- cher Lokali- sation
präkanz. Leuko- plakien	21.6 65.3 43.4	- - -

Tab. Nr. 4 (Fortsetzung):

	Zelldichte bez. auf 10.000/ μm^2 Fläche leukopl. veränderter Mucosa		Zelldichte bez. auf 10.000/ μm^2 Fläche gesunder Mucosa gleicher Lokalisation
endogen- irritative Leukoplakie (hier: Li- chen ruber planus)	22.0 n=20		23.7 n=12
	18.4		28.6
	32.3		19.4
	39.8		34.5
	44.4		17.4
	15.8		25.7
	19.0		33.3
	42.5		15.6
	18.3		18.9
	24.9		16.7
	23.7		25.1
	23.2		23.6
	31.3		-
	18.7		-
	20.8		-
	44.5		-
	25.2		-
	32.3		-
	26.1		-
	27.5		-

Tab. Nr. 4 (Fortsetzung):

	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche leukopl. Mucosa	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche normaler Mucosa gleicher Loka- lisation
exogen- irritative Leuko- plakien	30.8 n=56 30.3 37.6 87.1 39.6 40.3 49.5 41.5 22.9 43.5 34.9 38.3 34.9 54.9 57.2 34.0 23.5 40.9 44.6 16.5	60.3 n=30 14.9 20.9 34.5 36.6 23.8 32.0 20.7 43.0 42.8 30.3 37.6 40.7 35.5 35.3 28.3 30.7 26.3 32.8 37.4

Tab. Nr. 4 (Fortsetzung):

	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche leukopl. veränderter Mucosa	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche normaler Mucosa glei- cher Lokali- sation
exogen- irritat. Leukopl.	37.6 22.6 37.5 34.2 47.6 33.6 39.0 57.1 41.5 53.1 29.7 43.4 39.1 49.9 27.9 42.3 44.7 44.2 20.4	43.5 19.8 28.9 30.7 31.4 30.5 27.6 21.8 27.0 31.4 - - - - - - - - -

Tab. Nr. 4 (Fortsetzung):

	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche leukopl. veränderter Mucosa	Zelldichte bez. auf 10.000 μm^2 Fläche normaler Mucosa glei- cher Lokali- sation
exogen-	32.4	-
irritat.	78.8	-
Leukopla-	49.1	-
kien	39.2	-
	49.2	-
	28.7	-
	45.4	-
	68.6	-
	38.4	-
	47.9	-
	52.5	-
	73.7	-
	34.5	-
	34.0	-
	27.4	-
	66.5	-
	39.5	-

5.2. Statistische Auswertung:

Oben aufgeführtes Zahlenmaterial wurde einer statistischen Auswertung unterzogen. Dabei stellte sich die Frage, welcher Test am geeignetsten für die jeweilige Fragestellung sei.

Der χ^2 -Test wurde zunächst durchgeführt, wobei sich folgende Ergebnisse einstellten:

- a) Statistisch ließ sich ein Unterschied zwischen den Zelldichten exogen-irritativer Leukoplakien und Lichen ruber planus als Beispiel für endogen-irritative Leukoplakien bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % sichern.
- b) Zwischen Lichen ruber planus und präkanzerösen Leukoplakien ergab sich ebenfalls ein Unterschied bezüglich der Zelldichte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%.
- c) Zwischen präkanzerösen Leukoplakien und exogen-irritativen Leukoplakien konnte kein Unterschied bezüglich der Zelldichte nachgewiesen werden.

Bei Anwendung des χ^2 -Tests erhielten wir zwar prinzipiell die gleichen Aussagen wie bei Anwendung der nachfolgenden Tests, jedoch schienen uns die Irrtumswahrscheinlichkeiten keine große Aussagekraft zu haben, da wir die Klassengrenzen willkürlich festlegen mußten, ohne klinischen Bezug. Ein solcher würde dadurch hergestellt, daß man die Klassengrenzen nach histologischer Erfahrung bezüglich der Zelldichten in den einzelnen Leukoplakie-Gruppen festsetzte. Erfahrungswerte für die Größenordnung der Zelldichten

in den einzelnen Leukoplakien liegen nach unseren Informationen bisher allerdings nicht vor. An dieser Stelle sei auch erwähnt, daß wir im Verlauf der Untersuchung in Erwägung gezogen hatten, die Quotienten aus den Zelldichten der erkrankten und gesunden Mundschleimhaut jeweils desselben Patienten zu vergleichen. Dabei lag die Überlegung zugrunde, daß sich in den Zelldichten nicht nur der Einfluß der Erkrankung, sondern auch, individuell verschieden, der Einfluß von Geschlecht, Alter und Hormonstatus niederschlägt. Verglichen werden sollen die Zelldichten in unserem Fall jedoch nur bezüglich des Einflusses der Erkrankung. Da der Einfluß von Geschlecht, Alter und Hormonstatus beim selben Patienten bei gleichzeitiger Entnahme einer Biopsie der gesunden und der erkrankten Mundschleimhaut in beiden Gewebeproben gleich sein müßte, so müßten sich bei Quotientenbildung der Zelldichten aus den entsprechenden Biopsien die genannten unerwünschten Faktoren gleichsam herauskürzen, und man hätte alle Patienten bezüglich Geschlecht, Alter und Hormonstatus auf einen vergleichbaren Ausgangszustand relativiert. Dadurch müßten sich Unterschiede (falls solche bestehen) in den Zelldichten von gesundem und leukoplakisch verändertem Gewebe besser darstellen. Allerdings war uns kein statistischer Test bekannt, mit dessen Hilfe man Quotienten vergleichen könnte (mündliche Aussage von Herrn A. Schönberger).

Am günstigsten wäre es wohl, ein solch großes Kollektiv zu verwenden, daß man genügend Probanden findet, die sich in den Faktoren Geschlecht, Alter, Hormonstatus zumindest weitgehend ähneln, so daß man annehmen kann, daß der Einfluß dieser Faktoren innerhalb der einzelnen zu untersuchenden Gruppen ungefähr gleich ist.

Ein so großes Kollektiv stand uns allerdings nicht zur Verfügung.

So entschlossen wir uns, auf das Zahlenmaterial

- a) den Wilcoxon-Test für Paardifferenzen und
- b) den t-Test anzuwenden,

wobei der Wilcoxon-Test angebracht schien bei der Frage, ob sich ein Unterschied zwischen den einzelnen Leukoplakiegruppen und gesunder Mundschleimhaut bezüglich der Zelldichte sichern läßt.

Der t-Test sollte helfen, die Frage zu klären, ob zwischen leukoplakisch veränderter Mucosa gleich welcher Genese und normaler Mucosa bezüglich der Zelldichte ein Unterschied besteht und ob die einzelnen Leukoplakiegruppen untereinander Unterschiede in der Zelldichte aufweisen.

5.2.1. Der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen:

Der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, bei dem die Differenzen zwischen der Zelldichte im gesunden und im leukoplakischen Gewebe jeweils desselben Patienten durch Rangsummenbildung miteinander verglichen wurden, ergab folgendes:

- a) Die präkanzerösen Leukoplakien zeigen bezüglich der Zelldichte keinen statistisch gesicherten Unterschied gegenüber gesunder Mundschleimhaut.

Paardifferenzen	Rangzahlen	
2.8	1	-
-3.3	-	2
15.6	3	-
-16.8	-	4
19.5	5	-
31.6	6	-
38.5	7	-
n = 7	22	6 Rangsummen

Das Prüfmaß (die kleinere der beiden Rangsummen) ergibt sich zu $R = 6$. Für $n = 7$ ist der kritische Wert auf dem 5 %-Niveau 2. Da R in diesem Fall größer ist als 2, kann die Nullhypothese (präkanzeröse Leukoplakien und gesunde Mucosa haben gleiche Zelldichten) nicht verworfen werden.

- b) Die endogen-irritativen Leukoplakien am Beispiel des Lichen ruber planus zeigen gegenüber gesunder Mundschleimhaut ebenfalls keinen statistisch gesicherten Unterschied bezüglich der Zelldichte.

Paardifferenzen	Rangzahlen
-5.8	- 9
-5.9	- 10
-8.2	- 11
8.6	12 -
11.4	13 -
11.8	14 -
14.5	15 -
14.6	16 -
15.4	17 -
16.2	18 -
16.5	19 -
17.5	20 -
17.7	21 -
19.4	22 -
-20.1	- 23
20.8	24 -
-20.9	- 25
21.7	26 -
21.9	27 -
-29.5	- 28
35.3	29 -
52.6	30 -

n = 30 359 106 Rangsummen

Das Prüfmaß errechnet sich zu $R = 106$. Für $n = 30$ ist der kritische Wert auf dem 1 %-Niveau 109. Da R kleiner als 109 ist, kann die Nullhypothese (exogen-irritative Leukoplakien weisen bezüglich der Zelldichte keinen Unterschied zu gesunder Mundschleimhaut auf) verworfen werden. Gewebe mit exogen-irritativer Leukoplakie hat bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % eine höhere Zelldichte als normale Mucosa.

5.2.2. Anwendung des t-Tests:

Bei Anwendung des t-Tests auf das gewonnene Zahlenmaterial ergaben sich folgende Zusammenhänge:

1. Es besteht kein statistisch gesicherter Unterschied in der Zelldichte von Geweben mit den histologischen Zeichen einer Präkanzerose und der Zelldichte gesunden Gewebes desselben Patienten. (Tab. Nr. 7, Abb. Nr. 7)

	präkanzeröse Leukoplakie	gesundes Gewebe
Mittelwert	43.814	31.114
Standardabweichung	17.665	7.947
N	7	7
Maximum	69.2	42.6
Minimum	25.8	19.3
Median	38.8	28.2
t-Wert	1.6962	
Freiheitsgrade	6	
Signifikanz	20 %	

2. Wir konnten ebenfalls keinen Unterschied finden in der Zelldichte von Mucosa mit den Zeichen eines Lichen ruber und der Zelldichte normalen Gewebes desselben Patienten. (Tab. Nr. 7, Abb. Nr. 8)

	Lichen ruber	gesundes Gewebe
Mittelwert	27.025	23.541
Standardabweichung	10.129	6.283
N	12	12
Maximum	44.4	34.5
Minimum	15.8	15.6
Median	23.45	23.65
t-Wert	0.8992	
Freiheitsgrade	11	
Signifikanz	40 %	

3. Zwischen einem Gewebe aus einer exogen-irritativen Leukoplakie und einem normalen Gewebe desselben Patienten fanden wir einen deutlichen Unterschied mit einer Signifikanz von 1 % bezüglich der Zelldichte, die in der exogen-irritativen Leukoplakie höher ist als in der gesunden Mucosa. (Tab. Nr. 7, Abb. Nr. 9)

	exogen- irritative Leukoplakie	gesunde Mucosa
Mittelwert	40.220	31.900
Standardabweichung	13.350	8.964
Maximum	87.1	60.3
Minimum	16.5	14.9
Median	38.65	31.05
t-Wert	2.7887	

	exogen- irritative Leukoplakie	gesunde Mucosa
Freiheitsgrade	29	
Signifikanz	1 %	

Die oben genannten Ergebnisse stimmen mit denen des Wilcoxon-Test für Paardifferenzen überein.

4. Zwischen gesunder Mucosa und leukoplakisch veränderter Mucosa, gleich welcher Genese, ergab sich bezüglich der Zelldichte insgesamt ebenfalls ein deutlicher Unterschied, wobei die Leukoplakien mit einer Signifikanz von 1 % eine höhere Zelldichte besitzen als die normale Mucosa.

t-Vergleich für die Paardifferenzen:

Mittelwert (gesamt) der Differenzen:	7.7408
Standardabweichung	2.2977
N	49
t-Vergleich	3.3688
Freiheitsgrade	48
Signifikanz	1 %

5. Auffällig an obigen Ergebnissen ist die Tatsache, daß sowohl innerhalb der Gesamtpopulation als auch innerhalb der einzelnen Leukoplakie-Gruppen die Standardabweichung der Zelldichten des kranken Gewebes jeweils größer ist, als diejenige des ge-

sunden Gewebes, d.h. die Zelldichten sind in leukoplakischen Geweben größeren Schwankungen unterworfen als in normaler Mucosa (Tab. Nr. 5, 6, 7; Abb. Nr. 5, 6, 7, 8, 9).

6. Zwischen präkanzerösen und exogen-irritativen Leukoplakien fand sich kein statistisch gesicherter Unterschied bezüglich der Zelldichte. (Tab. Nr. 5, Abb. Nr. 6)

- t-Wert: 0.6036
- Freiheitsgrade 35
- Signifikanz 60 %

7. Zwischen präkanzerösen Leukoplakien und endogen-irritativen Leukoplakien am Beispiel des Lichen ruber planus fand sich ein mäßiger Unterschied bezüglich der Zelldichte bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %, wobei die präkanzerösen Leukoplakien die höheren Zelldichten aufwiesen. (Tab. Nr. 5, Abb. Nr. 6)

- t-Wert: 2.6569
- Freiheitsgrade 17
- Signifikanz 5 %

8. Zwischen exogen-irritativen Leukoplakien und Lichen ruber planus fand sich ein sehr deutlicher Unterschied bezüglich der Zelldichte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 %, wobei die exogen-irritativen Leukoplakien eine höhere Zelldichte hatten. (Tab. Nr. 5, Abb. 6)

- t-Wert: -3.0789
- Freiheitsgrade 40
- Signifikanz 1 %

Zur Verdeutlichung obiger Ergebnisse sind die Werte im folgenden Abschnitt noch einmal in Tabellen und Diagrammen zusammengefaßt.

Tab. Nr. 5: Klassendarstellung der Zelldichtenverteilung in normaler und leukoplakisch veränderter Mucosa verschiedener Genese jeweils desselben Patienten.

Klassenbreite: 10 Zellen pro $10.000 \mu\text{m}^2$

Fläche

Zellen pro $10000 \mu\text{m}^2$	normale Mucosa	präkanz. Leukopl.	exogen- irritat. Leukopl.
10 - 19.9	8	0	1
20 - 29.9	17	2	3
30 - 39.9	18	2	13
40 - 49.9	5	1	8
50 - 59.9	0	0	4
60 - 69.9	1	2	0
70 - 79.9	0	0	0
80 - 89.9	0	0	1
Summe	49	7	30

Tab. Nr. 5 (Fortsetzung):

Zellen pro 10000 μm^2	endog.- irritat. Leukopl. (Lichen ruber)	Leukopl. gesamt
10 - 19.9	4	5
20 - 29.9	4	7
30 - 39.9	2	17
40 - 49.9	2	11
50 - 59.9	0	4
60 - 69.9	0	2
70 - 79.9	0	0
80 - 89.9	0	1
Summe	12	49

Tab. Nr. 6: Klassendarstellung der Zelldichtenverteilung innerhalb der einzelnen Leukoplakiegruppen unter Mitverwendung der Leukoplakien, bei denen keine gesunde Schleimhaut zum Vergleich vorhanden war.
Klassenbreite: 10 Zellen pro 10000 μm^2 .

Zellen pro 10000 μm^2	präkanz. Leukopl.	exogen- irritat. Leukopl.	endogen- irritat. Leukopl. (Lichen ruber)
10 - 19.9	0	1	5
20 - 29.9	3	7	8
30 - 39.9	2	20	4
40 - 49.9	3	18	3
50 - 59.9	1	5	0
60 - 69.9	3	2	0
70 - 79.9	0	2	0
80 - 89.9	0	1	0
Summe	12	56	20

Abb. Nr. 5: Vergleich der Zelldichtenverteilung in leukoplakisch veränderter Mucosa (gleich welcher Genese) und normaler Mucosa unter Verwendung der Werte jeweils desselben Patienten.

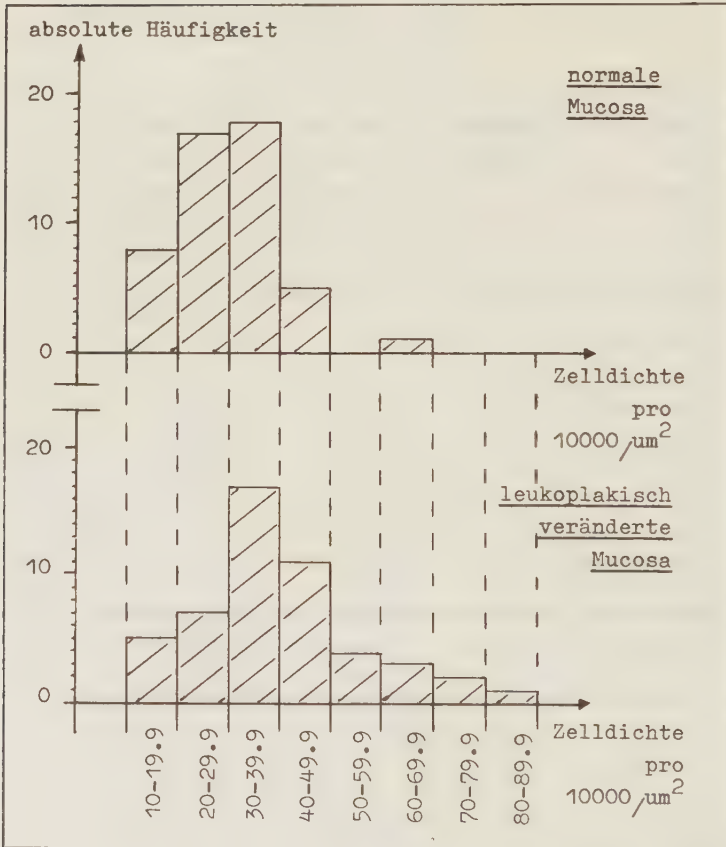
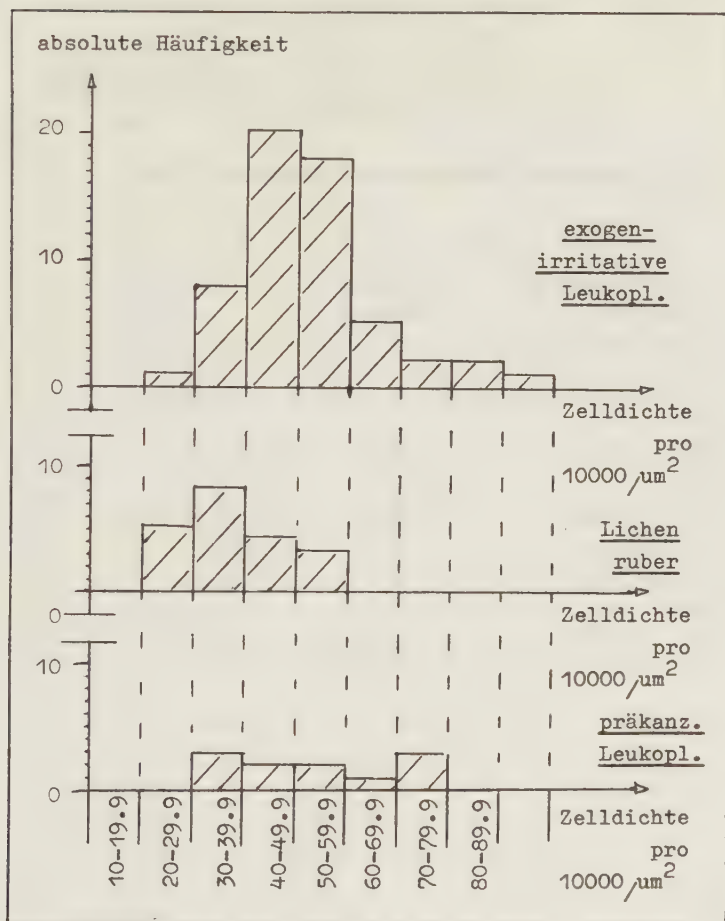


Abb. Nr. 6: Zelldichtenverteilung in Leukoplakien verschiedener Genese.



Tab. Nr. 7: Gegenüberstellung der Häufigkeiten von Zelldichten in den einzelnen Leukoplasiegruppen und in normaler Mucosa bei einer Klassenbreite von 10 Zellen pro $10000 \mu^2$ Einheitsfläche. (Einander gegenübergestellte Biopsien entstammen jeweils demselben Patienten)

a) präkanzeröse Leukoplakie - normale Mucosa:

Häufigkeits- klassen	präkanz. Leukopl.	normale Mucosa
10 - 19.9	0	1
20 - 29.9	2	3
30 - 39.9	2	2
40 - 49.9	1	1
50 - 59.9	0	0
60 - 69.9	2	0
70 - 79.9	0	0
80 - 89.9	0	0

Tab. Nr. 7 (Fortsetzung):

b) endogen-irritative Leukoplakie - normale Mucosa:

Häufigkeits- klassen	Lichen ru- ber planus	normale Mucosa
10 - 19.9	4	5
20 - 29.9	4	5
30 - 39.9	2	2
40 - 49.9	2	0
50 - 59.9	0	0
60 - 69.9	0	0
70 - 79.9	0	0
80 - 89.9	0	0

c) exogen-irritative Leukoplakie - normale Mucosa:

Häufigkeits- klassen	exogen- irritat. Leukopl.	normale Mucosa
10 - 19.9	1	2
20 - 29.9	3	9
30 - 39.9	13	14
40 - 49.9	8	4
50 - 59.9	4	0
60 - 69.9	0	1
70 - 79.9	0	0
80 - 89.9	1	0

Abb. Nr. 7: Vergleich der Zelldichte in Mundschleimhaut mit den histologischen Kriterien einer präkanzerösen Leukoplakie und in normaler Mucosa vergleichbarer Lokalisation.

Die Biopsien präkanzerösen und gesunden Gewebes stammen jeweils vom selben Patienten.

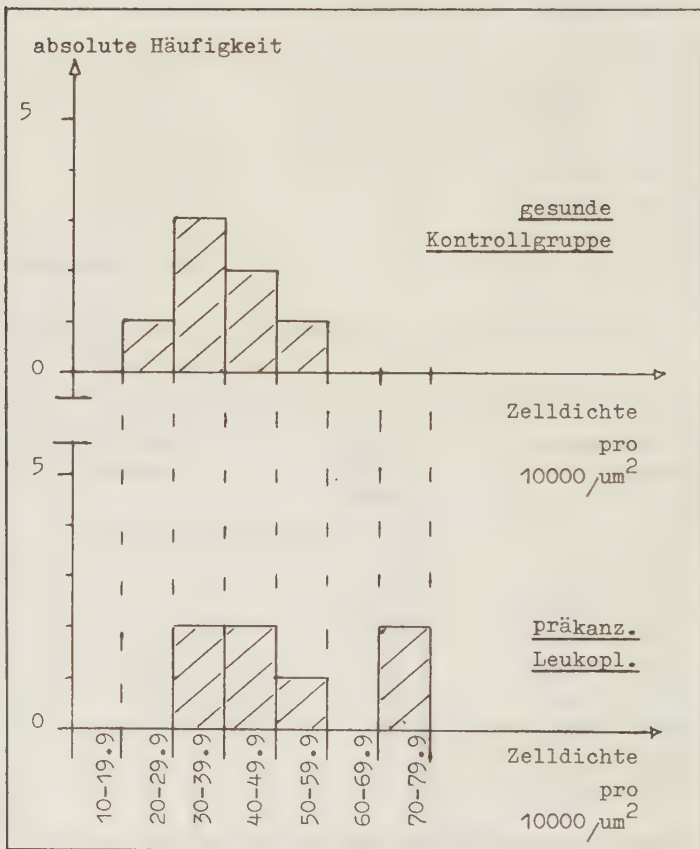


Abb. Nr. 8: Vergleich der Zelldichte in Mundschleimhaut mit den Zeichen einer endogen-irritativen Leukoplakie am Beispiel des Lichen ruber und in normaler Mucosa vergleichbarer Lokalisation. Dabei stammen die Biopsien des leukoplakischen und gesunden Gewebes jeweils vom selben Patienten.

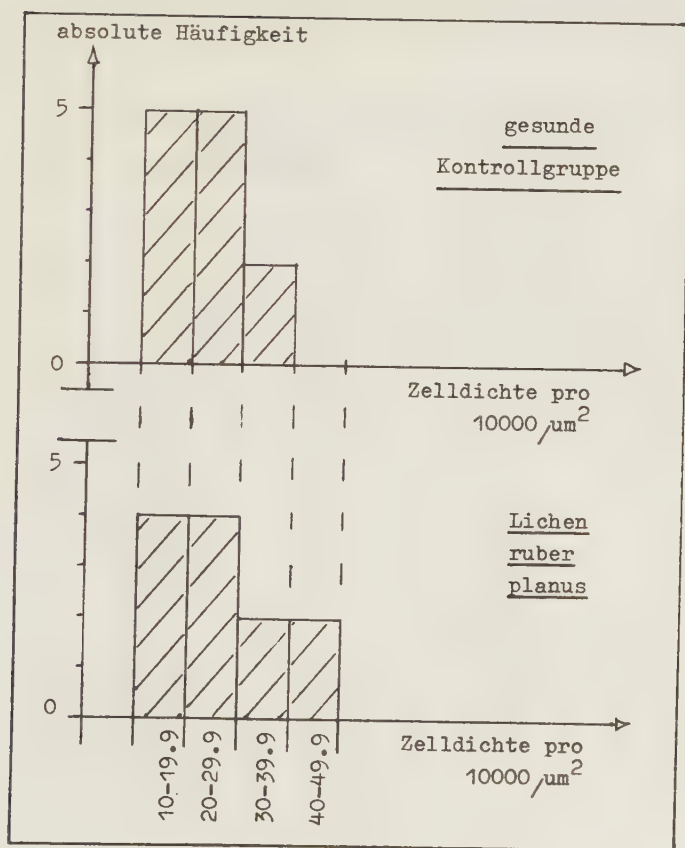
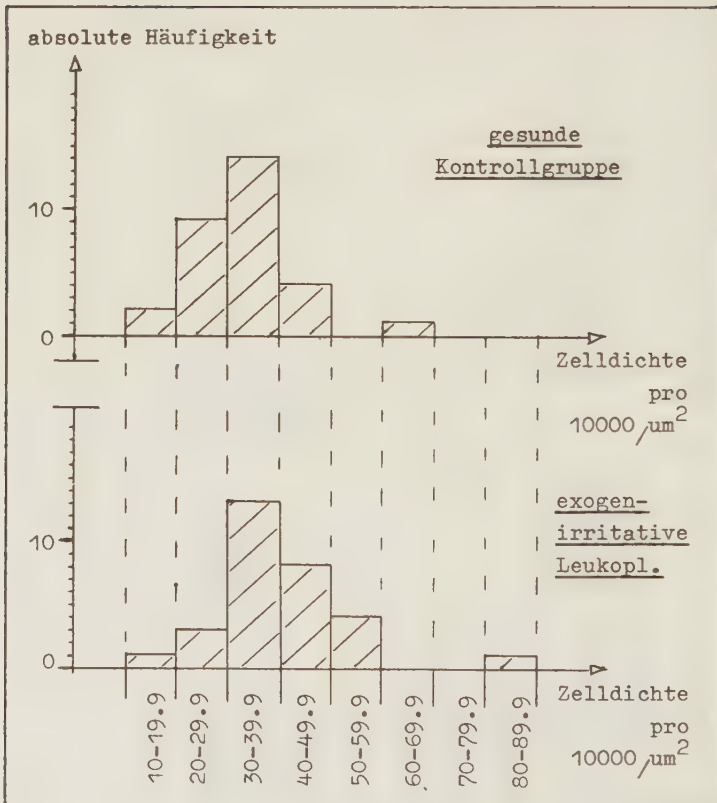


Abb. Nr. 9: Vergleich der Zelldichte in Mundschleimhaut mit exogen-irritativer Leukoplakie und in normaler Mucosa vergleichbarer Lokalisation.

Die Biopsien leukoplakischen und entsprechen den gesunden Gewebes stammen jeweils vom selben Patienten.



5.2.3. Bestimmung des Zusammenhangs zwischen Zelldichte und Keratinisierungsgrad leukoplakisch veränderten Gewebes:

Nachfolgend sind die für 88 Präparate mit leukoplakisch veränderter Mundschleimhaut ermittelten Zelldichten und der jeweilige Keratinisierungsgrad einander gegenübergestellt. Als Maß für den Keratinisierungsgrad diente der Quotient aus der Dicke des Stratum corneum und der Dicke des gesamten Epithels.

Tab. Nr. 8: Vergleich von Zelldichten und Keratinisierungsgrad verschiedener Leukoplakien.

Zelldichte bez. auf 10000 μm^2	Anteil d.Horn- schicht am ge- samten Epithel	Zelldichte bez. auf 10000 μm^2	Anteil d.Horn- schicht am ge- samten Epithel
29.7	0.14	43.4	0.13
39.1	0.38	34.5	0.14
49.9	0.23	22.0	0.69
65.5	0.21	54.5	0.14
25.9	0.33	44.5	0.32
34.9	0.33	32.3	0.67
30.8	0.29	30.3	0.23
73.7	0.13	27.9	0.09
52.5	0.31	42.3	0.00
37.5	0.52	39.8	0.09

Tab. Nr. 8 (Fortsetzung):

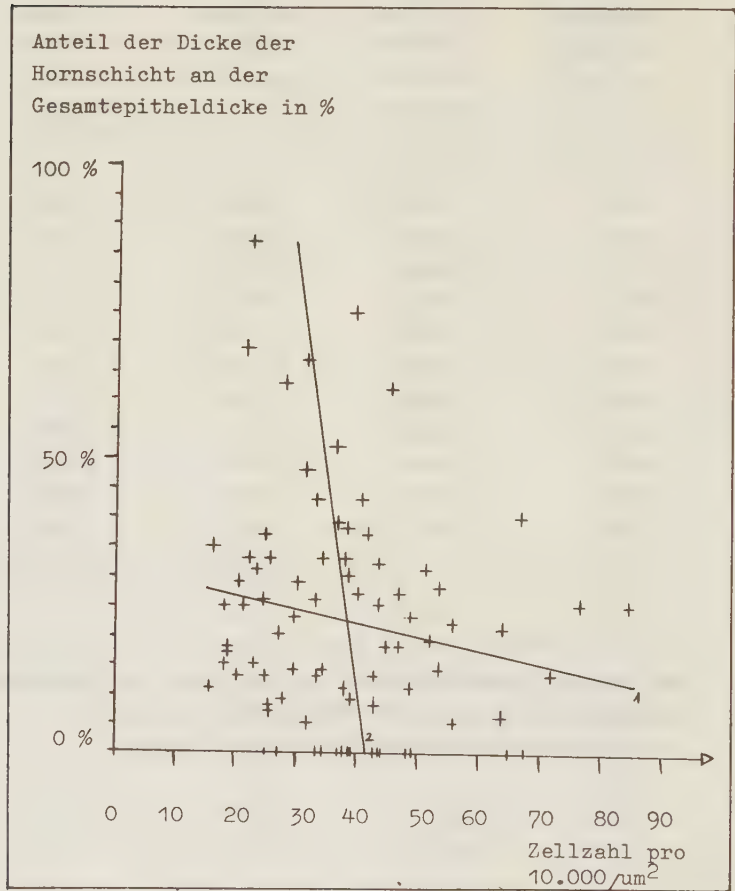
Zelldichte bez. auf 10000 μm^2	Anteil d. Horn- schicht am ge- samten Epithel	Zelldichte bez. auf 10000 μm^2	Anteil d. Horn- schicht am ge- samten Epithel
25.2	0.13	44.7	0.00
21.6	0.25	34.0	0.13
37.6	0.39	87.1	0.25
44.2	0.00	39.6	0.00
25.8	0.08	43.4	0.00
27.4	0.00	34.2	0.43
40.3	0.75	20.4	0.13
49.5	0.11	41.5	0.26
22.9	0.87	44.4	0.00
38.8	0.33	38.3	0.00
31.3	0.24	32.4	0.48
19.0	0.17	47.6	0.18
18.7	0.18	33.6	0.26
34.9	0.00	66.5	0.00
54.9	0.28	42.5	0.37
78.8	0.25	39.0	0.20
32.3	0.50	20.8	0.29
39.5	0.00	49.1	0.00
44.5	0.25	18.3	0.25
57.2	0.05	39.2	0.30
34.0	0.00	25.3	0.37
49.2	0.00	26.1	0.07
40.9	0.27	28.7	0.63

Tab. Nr. 8 (Fortsetzung):

Zelldichte bez. auf 10.000/ μm^2	Anteil d. Horn- schicht am ge- samten Epithel	Zelldichte bez. auf 10.000/ μm^2	Anteil d. Horn- schicht am ge- samten Epithel
44.6	0.32	16.5	0.35
24.9	0.26	37.6	0.00
57.1	0.22	27.5	0.2
23.7	0.31	41.5	0.43
65.3	0.06	46.6	0.62
18.4	0.15	22.6	0.33
45.4	0.18	23.2	0.15
69.2	0.00	68.6	0.40
38.4	0.11	47.9	0.27
53.1	0.19	43.5	0.08
15.8	0.11	34.9	0.33

Die Werte für die Zelldichte und den Anteil der Hornschicht am gesamten Epithel wurden einer Regressions-Korrelations-Analyse zugeführt, wobei sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.17$ ergab.

Abb. Nr. 10: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in leukoplakisch verändertem Gewebe und dem Keratinisierungsgrad.



Aus der Abbildung und dem Korrelationskoeffizienten $r = -0.17$ geht hervor, daß zwischen dem Verhornungsgrad leukoplakischer Mundschleimhaut und ihrer Zelldichte in unseren Präparaten kein Zusammenhang bestand.

5.2.4 Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Lebensalter und Zelldichten leukoplakischer Mundschleimhaut:

In den folgenden Tabellen sind das Lebensalter und die Zelldichte in leukoplakisch veränderter Mundschleimhaut jeweils desselben Patienten einander gegenübergestellt. Außerdem wurde noch nach Geschlechtern unterschieden.

Tab. Nr. 9: Vergleich der Zelldichten in Leukoplakien mit dem Alter der betreffenden Patienten.

a) präkanzeröse Leukoplakien:

	Zelldichte	Lebensalter
männlich	54.5	69
	25.9	67
	44.5	89
	21.6	66
	38.8	66
	65.3	69
	46.6	31
	69.2	51

Tab. Nr. 9 (Fortsetzung):

	Zelldichte	Lebensalter
weiblich	65.5	32
	34.9	77
	25.8	78
	43.4	60

b) endogen-irritative Leukoplakien (Lichen ruber):

	Zelldichte	Lebensalter
männlich	22.0	45
	31.3	19
	18.7	65
	44.5	49
	20.8	67
weiblich	32.3	55
	39.8	62
	25.2	43
	44.4	31
	19.0	53
	42.5	49
	32.3	47
	18.3	42
	26.1	56
	24.9	55
	27.5	66

Tab.Nr. 9 (Fortsetzung):

	Zelldichte	Lebensalter
weiblich	23.7	28
	18.4	49
	23.2	37
	15.8	31

c) exogen-irritative Leukoplakien:

	Zelldichte	Lebensalter
männlich	29.7	42
	43.4	61
	39.1	30
	49.9	27
	30.8	45
	30.3	46
	27.9	51
	42.3	31
	44.7	47
	37.6	33
	87.1	41
	44.2	31
	39.6	30
	40.3	49
	20.4	62
	49.5	44
	41.5	50

Tab. Nr. 9 (Fortsetzung):

	Zelldichte	Lebensalter
männlich	22.9	34
	43.5	59
	34.9	76
	38.3	27
	32.4	22
	34.9	29
	54.9	54
	78.8	43
	49.1	65
	57.2	37
	39.2	51
	34.0	37
	25.3	61
	49.2	51
	40.9	45
	28.7	57
	44.6	39
	16.5	33
	37.6	64
	22.6	62
	45.4	54
	68.6	51
	38.4	41
	47.9	39

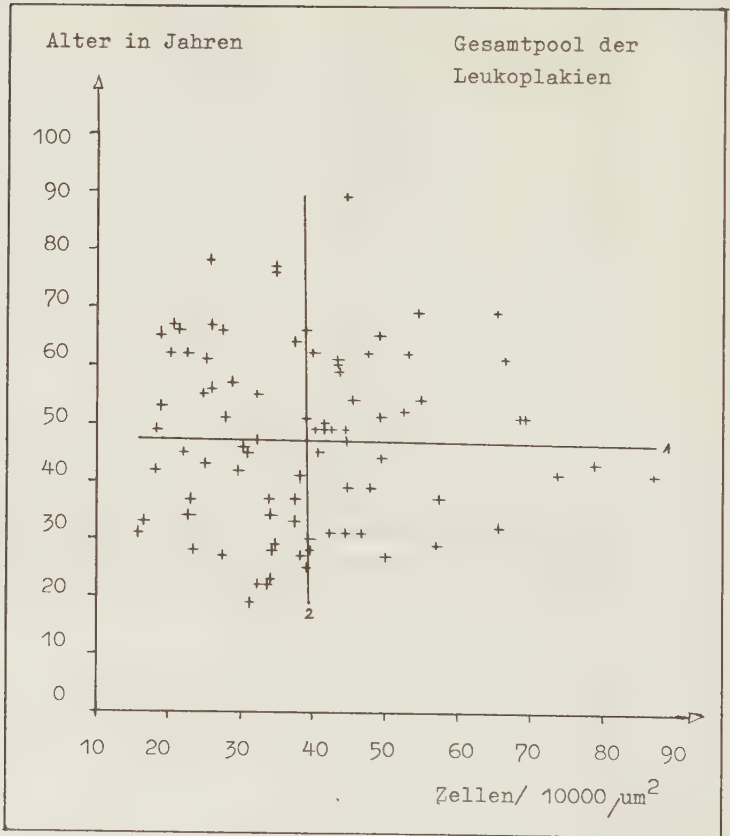
Tab. Nr. 9 (Fortsetzung):

	Zelldichte	Lebensalter
weiblich	34.5	28
	52.5	52
	37.5	37
	34.0	23
	27.4	27
	34.2	34
	47.6	62
	33.6	22
	66.5	61
	39.0	25
	39.5	28
	57.1	29
	41.5	49
	53.1	62
	73.7	41

Die Frage, ob zwischen der Zelldichte in leukoplakischen Veränderungen der Mundschleimhaut und dem Lebensalter des jeweiligen Patienten ein Zusammenhang besteht, wurde mit Hilfe einer Regressions-Korrelations-Analyse untersucht.

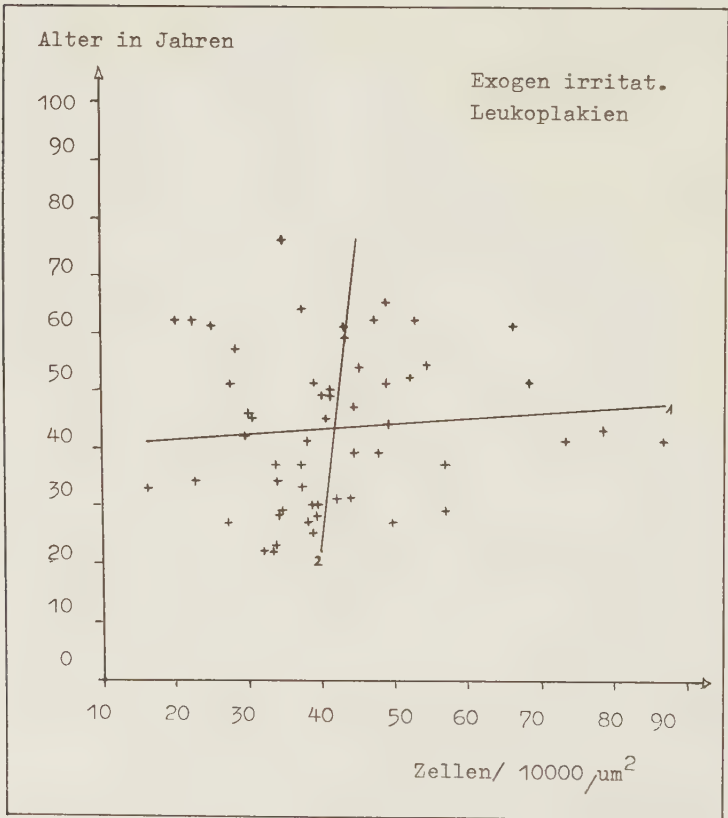
Dabei erhielten wir folgende Ergebnisse:

5.2.4.1 Abb. Nr. 11: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in leukoplakisch veränderter Mundschleimhaut, gleich welcher Genese, und dem Alter der betreffenden Patienten, gleich welchen Geschlechts.



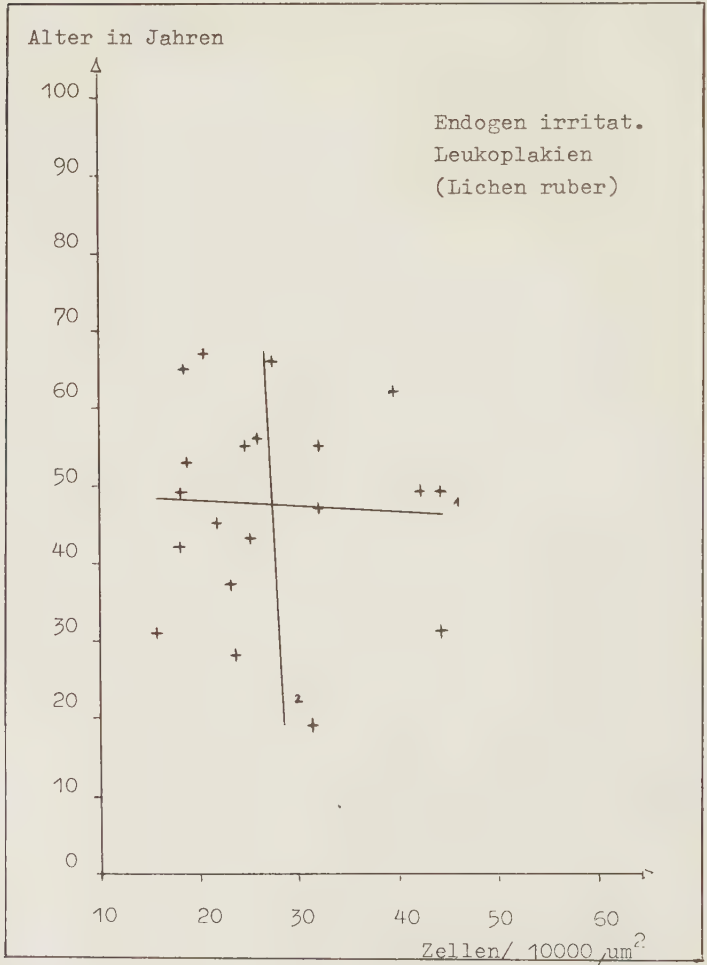
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = -0.0124$ errechnet, was besagt, daß kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und der Zelldichte in den leukoplakischen Veränderungen der Mundschleimhaut, gleich welcher Genese, vorliegt.

5.2.4.2 Abb. Nr. 12: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der betreffenden Patienten, gleich welchen Geschlechts.



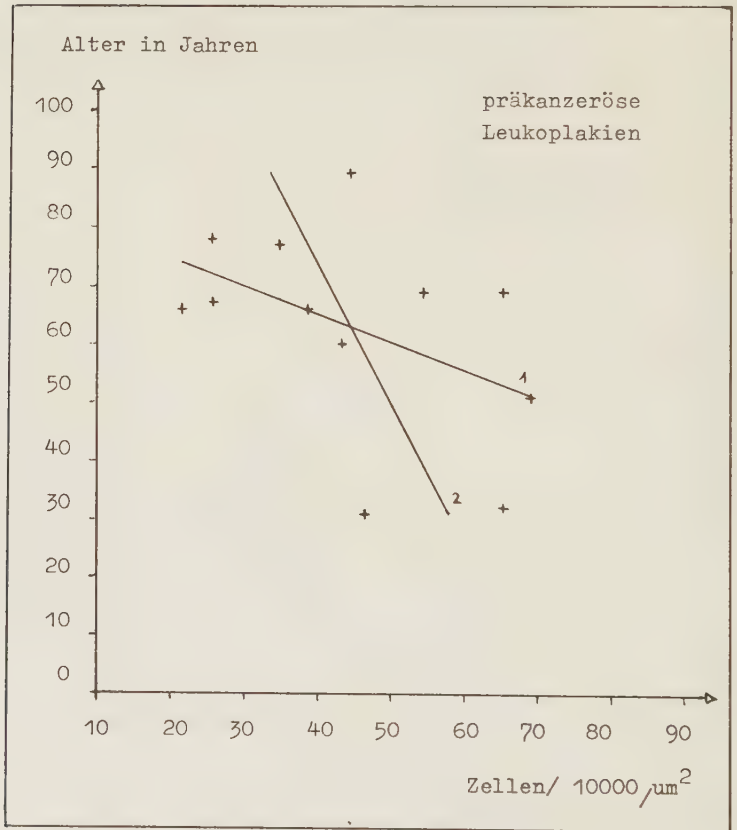
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.0885$ errechnet, d.h. in unserem Patientengut ließ sich kein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der Patienten, gleich welchen Geschlechts, sichern.

5.2.4.3 Abb. Nr. 13: Zusammenhang zwischen Zelldichte in endogen-irritativen Leukoplakien am Beispiel des Lichen ruber der Mundschleimhaut und dem Alter der betreffenden Patienten, gleich welchen Geschlechts.



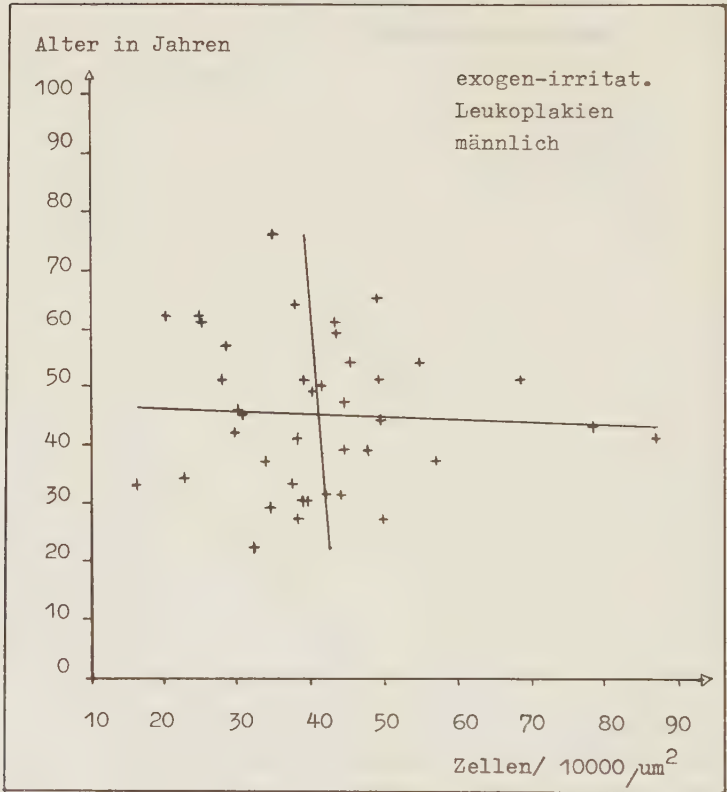
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = -0.05$ errechnet, d.h. für unsere 20 Probanden ließ sich kein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in endogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut, in unserem Fall Lichen ruber, und dem Alter der Patienten, gleich welchen Geschlechts, sichern.

5.2.4.4 Abb. Nr. 14.: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in präkanzerösen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der betreffenden Patienten, gleich welchen Geschlechts.



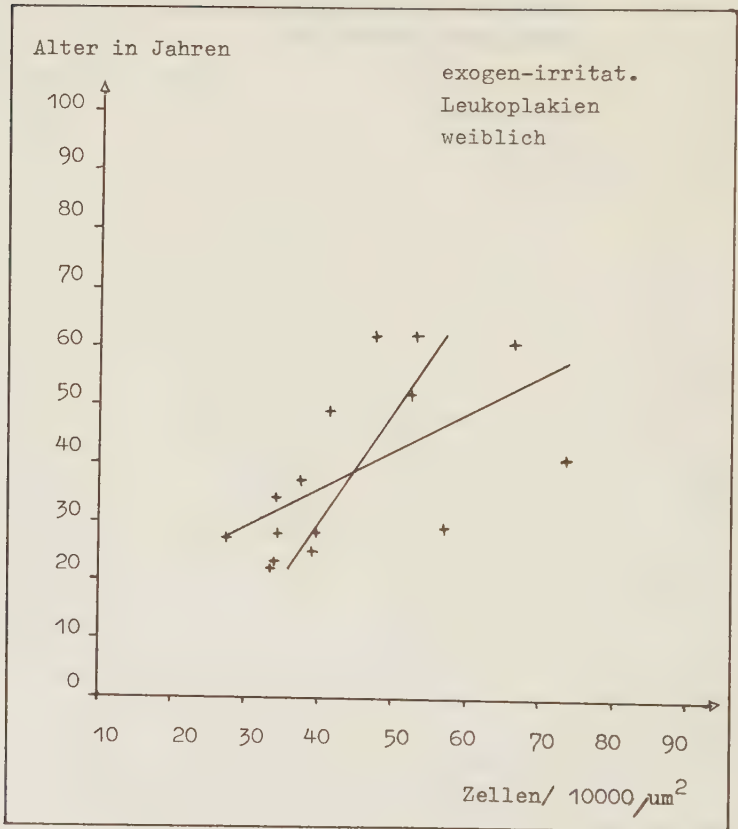
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = -0.4476$ errechnet, was bei einer Fallzahl von $n = 12$ bedeutet, daß zwischen der Zelldichte in präkanzerösen Leukoplakien und dem Alter der Patienten, gleich welchen Geschlechts, sich statistisch kein Zusammenhang sichern läßt.

5.2.4.5 Abb. Nr. 15: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der betreffenden männlichen Patienten.



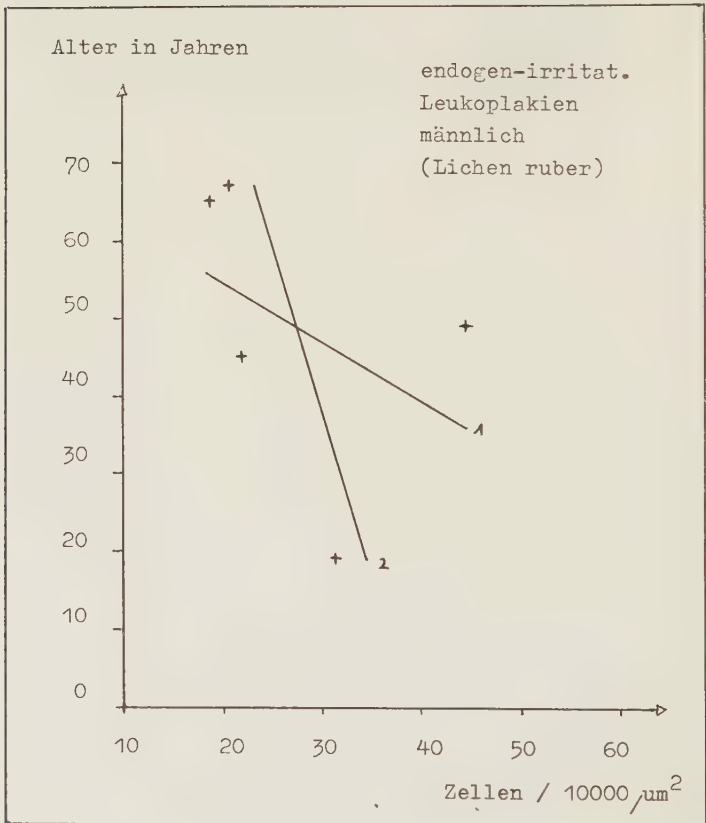
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = -0.05$ errechnet, was bei einer Fallzahl von $n = 41$ bedeutet, daß sich bei unseren männlichen Patienten kein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien und dem Alter der betreffenden Patienten sichern ließ.

5.2.4.6 Abb. Nr. 16: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der betreffenden weiblichen Patienten.



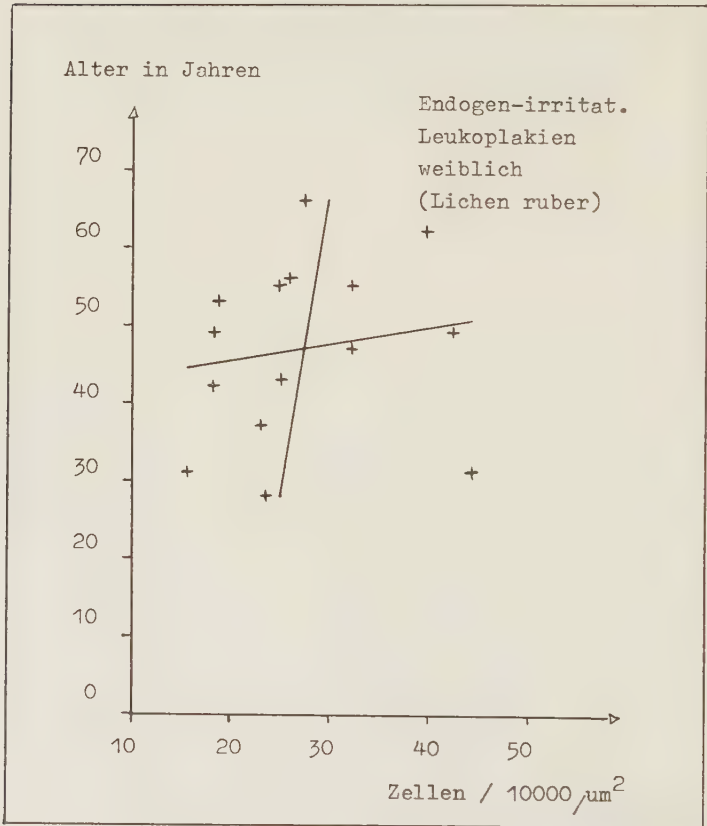
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.59$ errechnet, d.h. bei einer Fallzahl von $n = 15$ ließ sich für unser weibliches Patientengut ein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der Patientinnen auf dem 5 %-Niveau sichern, und zwar steigt mit zunehmendem Alter die Zelldichte in exogen-irritativen Leukoplakien der Mundschleimhaut von Frauen.

5.2.4.7. Abb. Nr. 17: Zusammenhang zwischen der Zelldichte der durch Lichen ruber leukoplakisch veränderten Mundschleimhaut männlicher Patienten und dem Alter der betreffenden Patienten.



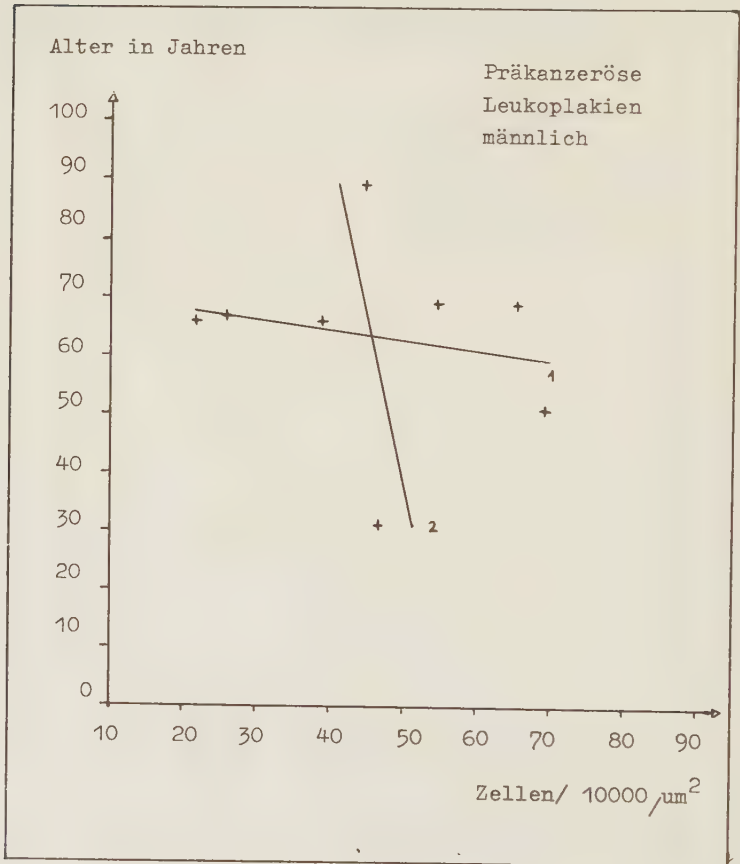
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.42$ errechnet, was bei einer Fallzahl von $n = 5$ bedeutet, daß sich für männliche Patienten unseres Patientengutes kein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in der Mundschleimhaut mit Zeichen des Lichen ruber und dem Alter der Patienten sichern ließ.

5.2.4.8 Abb. Nr. 18: Zusammenhang zwischen der Zelldichte der durch Lichen ruber leukoplakisch veränderten Mundschleimhaut weiblicher Patienten und dem Alter der betreffenden Patientinnen.



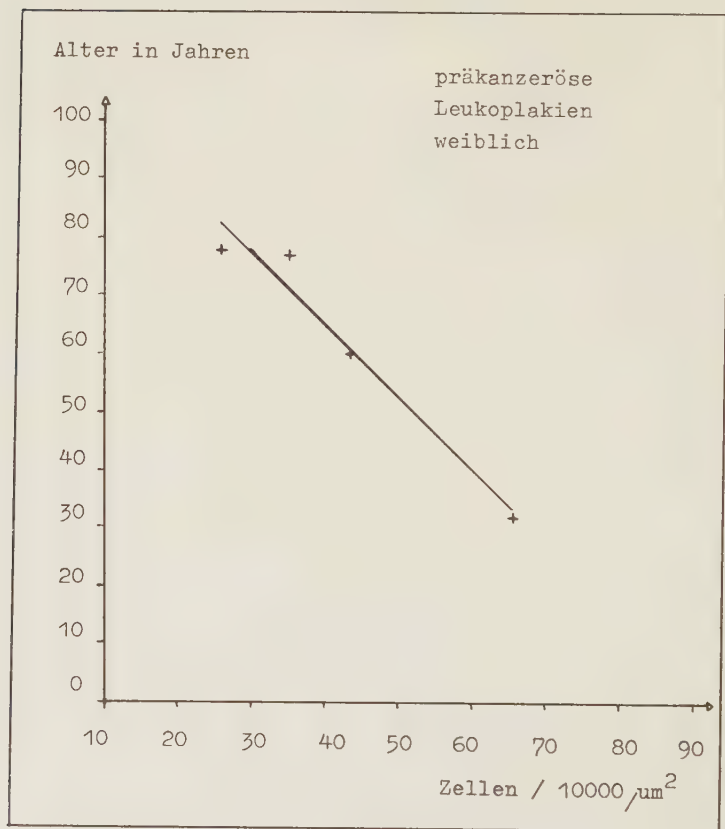
Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.16$ errechnet, was bei einer Fallzahl von $n = 15$ bedeutet, daß sich für unser weibliches Patientengut kein Zusammenhang zwischen Zelldichte in der Mundschleimhaut mit Zeichen von Lichen ruber und dem Alter der Patientinnen sichern ließ.

5.2.4.9. Abb. Nr. 19: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in präkanzerösen Leukoplakien der Mundschleimhaut männlicher Patienten und dem Alter der betreffenden Patienten.



Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.17$ errechnet, was bei einer Fallzahl von $n = 8$ bedeutet, daß sich für unser männliches Patientengut kein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in präkanzerösen Leukoplakien und dem Alter der Patienten sichern ließ.

5.2.4.10 Abb. Nr. 20: Zusammenhang zwischen der Zelldichte in präkanzerösen Leukoplakien der Mundschleimhaut weiblicher Patienten und dem Alter der Patientinnen.



Es wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = 0.97$ errechnet, was bei einer Fallzahl von $n = 4$ bedeutet, daß in unserem weiblichen Patientengut ein Zusammenhang zwischen der Zelldichte in präkanzerösen Leukoplakien der Mundschleimhaut und dem Alter der Patientinnen besteht, und zwar nimmt mit zunehmendem Alter die Zelldichte in den präkanzerösen Leukoplakien der Frauen ab (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

6. DISKUSSION:

Unsere wichtigste Frage, nämlich ob zwischen präkanzerösen Leukoplakien und Leukoplakien anderer Diagnosengruppen ein Unterschied bezüglich der Zelldichte besteht, konnten wir nur im Falle des Lichen ruber positiv beantworten. Für die Gruppe der exogen-irritativen und der präkanzerösen Leukoplakien war es nicht möglich, einen eventuellen Unterschied statistisch abzusichern.

Daraus läßt sich unserer Meinung nach aber noch nicht der Schluß ziehen, daß präkanzeröse Leukoplakien und exogen-irritative Leukoplakien tatsächlich vergleichbare Zelldichten besitzen, da die Zahl von präkanzerösen Leukoplakien, die wir in unserer Untersuchungsreihe überblicken konnten, für eine solche Aussage wohl zu gering war.

Weiter glauben wir, daß man einmal durch Vergrößerung der Fläche, auf der man die Zelldichte im mikroskopischen Präparat bestimmt und zum anderen durch isolierte Bestimmung der Zelldichten für die einzelnen Schichten des Mundschleimhautepithels zu Ergebnissen mit größerer Reliabilität kommt. Es scheint uns für die Zukunft wichtig, daß für ähnliche Untersuchungen, vor allem im Falle der präkanzerösen Leukoplakien, ein größeres Untersuchungsgut zur Verfügung steht. Dies wäre eventuell durch eine Vergrößerung der Zahl der Stellen zu erreichen, an denen entsprechendes Biopsiematerial gewonnen wird.

In weiteren Untersuchungen wäre auch die Möglichkeit zu überprüfen, ob man durch Messung der Flächendichte der Kerne im Verhältnis zur Flächendichte des Zytoplasmas

mit Hilfe des I.C.F.-Systems und durch eventuellen Vergleich mit den dazugehörigen Zelldichten ein verlässlicheres Kennzeichen malignen Potentials für Leukoplakien aufdeckt, denn durch solche Messungen würde man ein Maß für die Kern-Plasma-Relation erhalten, die ja bei einem atypischen Epithel zugunsten des Kerns verschoben ist. Es wäre auch denkbar, daß ähnliche Untersuchungen unsere Ergebnisse in dem Sinne bestätigen, daß sich tatsächlich kein Unterschied bezüglich der Zelldichte zwischen präkanzerösen Leukoplakien und Leukoplakien anderer Genese finden läßt.

Man kann sich vorstellen, daß auf dem Wege zur malignen Entartung die proliferative Aktivität eines Epithels nur kurzzeitig erhöht ist und sich dann wieder auf einem, allerdings höheren, Niveau in Form eines "steady state" einpendelt. Der Zeitpunkt dieser Erhöhung der Mitosetätigkeit würde dann mit dem Einwirken eines chronisch regeneratorschen Reizes oder mehrerer solcher Reize zusammenfallen. Je nachdem wie lange der Reiz anhält, beziehungsweise wie stark er ist, sind die Regelsysteme in der Lage, die proliferative Aktivität wieder auf ein Normalmaß zurückzuschrauben, oder aber die Mitosetätigkeit pendelt sich auf einem neuen höheren Gleichgewicht ein. Dies würde sehr gut mit den Vorstellungen von VAN SCOTT (1965) über den Entstehungsmechanismus einer Leukoplakie harmonieren. Die Phase der zwar erhöhten, aber im Gleichgewicht befindlichen Proliferationskinetik entspräche dann der Phase der präkanzerösen Leukoplakie. Es wäre nun möglich, daß man in dieser Phase die erhöhte Proliferationskinetik gar nicht nachweisen kann, da sie von anderen Mechanismen überdeckt wird, wie zum Beispiel dadurch, daß sich die Verteilung der Zellgrößen

ändert, oder aber es ist nicht die Proliferation der an sich schon vorhandenen Zellen erhöht, sondern lediglich der Pool der proliferierenden Zellen (FABRICANT 1969).

In der ersten Phase der irritativen Leukoplakie würden sich diese sekundären Störungen eventuell noch nicht bemerkbar machen, so daß man, wie es in unserem Fall geschehen ist, eine höhere mitotische Aktivität oder Zelldichte mißt.

Die Phase der Präkanzerose, in der sich nach obiger Vorstellung die Proliferation in einem neuen Gleichgewicht auf einer höheren Ebene befindet, wäre so lange konstant, als kein neuer Reiz, in diesem Falle ein sogenannter karzinogener Reiz, auf das Epithel trifft. Ist dies der Fall, so wird dieses Gleichgewicht gestört und es kommt zum invasiven Wachstum, aus der Präkanzerose wird ein Karzinom.

Für den Schritt von der Präkanzerose zum Karzinom sind jedoch möglicherweise nicht nur epitheliale Veränderungen von Bedeutung, sondern es könnte auch das subepitheliale Bindegewebe in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen (KARRING 1973), d.h. daß von seiten des submucösen Bindegewebes eine gewisse Disposition für eine Infiltration durch das Epithel vorliegen muß. Möglicherweise sind die von MATSUMURA und KAWAKATSU (1972) festgestellten erhöhten Aktivitäten der Phosphatase und Amino-peptidase im Stroma hierfür ein Indiz.

Beachtenswert bei unseren Untersuchungsergebnissen erscheint uns, daß die Streuung der Zelldichten in allen Leukoplakie-Diagnose-Gruppen höher war, als in den ge-

sunden Vergleichsgruppen. Dies gilt ganz besonders für die präkanzerösen Leukoplakien. Dies ließe sich durch die in der oben erläuterten Hypothese aufgezeichnete Interferenz verschiedener Mechanismen, wie größere Streuung der Zellvolumina, Zunahme des proliferativen Pools der Zellen sowie erhöhte Proliferationskinetik in der Phase der Präkanzerose erklären.

Der Zusammenhang, der sich zwischen präkanzerösen Leukoplakien und exogen-irritativen Leukoplakien bei Frauen und dem Alter der Patientinnen ergab, scheint uns von geringerer Reliabilität, da die Zahl der Probanden relativ klein war und das Signifikanzniveau umgekehrt ziemlich hoch.

Insgesamt ist die vorliegende Arbeit als eine Vorläuferarbeit zu verstehen, die klären helfen sollte, ob Zelldichtenbestimmungen einen gangbaren Weg in Richtung auf ein besseres Verständnis oder möglicherweise eine bessere Diagnostik der Leukoplakien, insbesondere der präkanzerösen Leukoplakien, darstellen.

Diese Frage scheint uns positiv beantwortet werden zu können, wenn es gelingt, die relativ großen Schwankungen in den Zelldichtenergebnissen der einzelnen Präparate auszugleichen. Wir haben zunächst versucht, dies durch eine möglichst hohe Zahl von Präparaten zu erreichen. Für künftige Untersuchungen wäre zu prüfen, ob diese Schwankungen nicht besser durch Auswertung mehrerer Anschnitte innerhalb eines Serienschnitts sowie durch Mehrfachuntersuchungen innerhalb eines Anschnitts, d.h. durch Erfassung einer größeren Fläche, herausgemittelt werden können.

7. ZUSAMMENFASSUNG:

Zur Untersuchung gelangten 88 Biopsien mit leukoplakischen Mundschleimhautveränderungen. Von 49 Patienten lag zum Vergleich eine gesunde Schleimhautprobe entsprechender Lokalisation vor.

Gemessen wurden die Zellzahl und die dazugehörige Fläche mit Hilfe eines für diese Zwecke modifizierten M.O.F.-Systems, das uns durch ein Integrationsverfahren zur möglichst genauen Flächenbestimmung verhalf.

Es sollte die Frage geklärt werden, ob Leukoplakien Besonderheiten bezüglich der Zelldichte aufweisen, und ob diese Besonderheiten Grundlage einer einfachen und sicheren Diagnostik darstellen könnten.

Die Untersuchungen lieferten folgende Ergebnisse:

- 7.1. Leukoplakien der menschlichen Mundschleimhaut zeigten in unserer Untersuchung eine höhere Zelldichte als das normale Mundschleimhautepithel bei einem Signifikanzniveau von 1 %.
- 7.2. Für präkanzeröse Leukoplakien und normales orales Epithel ließ sich statistisch kein Unterschied bezüglich der Zelldichte absichern.
- 7.3. Zwischen einer Mucosa mit den Zeichen von Lichen ruber und einer gesunden oralen Mucosa zeigte sich ebenfalls kein statistisch deutlicher Unterschied bezüglich der Zelldichte.
- 7.4. Die Zelldichte exogen-irritativer Leukoplakien war bei einem Signifikanzniveau von 1 % höher als die der normalen Mucosa.

7.5. Zwischen präkanzerösen und exogen-irritativen Leukoplakien fand sich kein statistisch gesicherter Unterschied bezüglich der Zelldichte.

7.6. Zwischen präkanzerösen Leukoplakien und Lichen ruber konnte bei einem Signifikanzniveau von 5 % ein Unterschied bezüglich der Zelldichte festgestellt werden, wobei die präkanzerösen Leukoplakien die höhere Zelldichte besaßen.

7.7. Die exogen-irritativen Leukoplakien zeigten auf einem Signifikanzniveau von 1 % eine höhere Zelldichte, als die endogen-irritativen Leukoplakien, am Beispiel des Lichen ruber planus.

Zusätzlich versuchten wir noch einen möglichen Zusammenhang zwischen Proliferations- und Differenzierungsstörung aufzudecken durch Vergleich der Zelldichten mit dem jeweiligen Anteil der Dicke des Stratum corneum an der Gesamtepitheldicke.

7.8. Es ließ sich kein Zusammenhang zwischen der Zelldichte und dem Keratinisierungsgrad von Leukoplakien sichern.

Schließlich untersuchten wir noch den Zusammenhang zwischen dem Lebensalter der betreffenden Probanden und den Zelldichten in den jeweiligen Schleimhautpräparaten. Diese Untersuchung wurde getrennt nach Geschlecht und nach den einzelnen Diagnosegruppen der Leukoplakien durchgeführt.

7.9. - Für den Gesamtpool der Leukoplakien ergab sich kein Zusammenhang zwischen Lebensalter und Zelldichte.

- Zwischen exogen-irritativen, endogen-irritativen sowie präkanzerösen Leukoplakien und dem Alter der betreffenden Patienten, gleich welchen Geschlechts, konnte ebenfalls kein Zusammenhang nachgewiesen werden.

- Für die exogen-irritativen Leukoplakien bei Frauen ließ sich auf einem Signifikanzniveau von 5 % allerdings eine mit dem Alter zunehmende Zelldichte ermitteln, während umgekehrt bei Frauen mit präkanzerösen Leukoplakien auf demselben Signifikanzniveau eine mit dem Alter abnehmende Zelldichte gefunden wurde.

Im letzten Fall wird die Aussagekraft allerdings durch eine geringe Probandenzahl eingeschränkt.

- In allen übrigen nach Geschlechtern aufgetrennten Diagnosegruppen der Leukoplakie ergab sich kein Zusammenhang zwischen Zelldichte und Lebensalter.

8. LITERATURVERZEICHNIS:

8.1. ANDRAE A.

Die Leukoplakie der Mundschleimhaut als Präkanzerose
Dtsch. Gesundh. Wes. 28 (2057-60) 1973

8.2. BANOCZY J.

Exfoliative cytologic changes in oral leukoplakia
J. Dent. Res. 48 (17-21) 1969

8.3. BANOCZY J., TÖRÖK

Studies on human hyperkeratotic mucosa kept in tissue
and organ cultures
Arch. Oral. Biol. 15/2 (115-126) 1970

8.4. BANOCZY J.

Comparative study of the clinical picture and histo-
pathologic structures of oral leukoplakia
Cancer 29 (1230-34) 1972

8.5. BASERGA R.

The relationship of the cell cycle to tumor growth and
control of the cell division; a review
Cancer Res. 25 (581-95) 1965

8.6. BULLOUGH W.S., LAURENCE E.B.

Tissue homeostasis in adult mammals
Advances in biology of skin 7, 1966

8.7. BULLOUGH W.S.

Analysis of life cycle in mammalian cells
Nature 199 (859-62) 1963

8.8. CAHN L.R., EISENBUD L., BLAKE M.

Histochemical analyses of white lesions of the mouth
Oral Surg. Med. Path. 14 (596-602) 1961

- 8.9. CAHN L.R., EISENBUD L., BLAKE M.N.
Histochemical analyses of white lesions of the mouth
Oral Surg. 15 (458-62) 1962
- 8.10. CAWSON R.A.
Premalignant lesions in the mouth
Br. Med. Bull. 31 (164-8) 1975
- 8.11. DABELSTEEN E., ROED-PETERSEN B., SMITH C.J., PINDBORG J.J.
The limitations of exfoliative cytology for the
detection of epithelial atypia in oral leukoplakias
Br.J. Cancer 25 (21-4) 1971
- 8.12. DICK H.M., MC MURCHY K.A.
Early changes in epidermoid carcinoma
Oral Surg. 29 (883-92) 1970
- 8.13. DOYLE J.L., MANHOLD J.H., WEISINGER E.
Microscopie and microrespirometer study of the effect
of cigarette smoking on human oral soft tissues.
A preliminary report of an in vivo study.
Oral Surg. 26 (667) 1968
- 8.14. EHLERS G.
DNS-Gehalt von Haut-Präkanzerosen. Ein Beitrag zur
Frage der nosologischen Sonderstellung kutaner
Präkanzerosen
Fortschr. Med. 89 (1042-43) 1971
- 8.15. ELGJO K., LAERUM O.D., EDGEHILL W.
Growth regulation in mouse epidermis
I: G₂-inhibitor present in the basal cell layer
Virchows Arch. Abt. B 8 (227-83) 1971

- 8.16. ELGJO K., LAERUM O.D., EDGEHILL W.
Growth regulation in mouse epidermis
II: G₁-inhibitor present in the differentiating
cell layer
Virchows Arch. Abt. B 10 (229-36) 1972
- 8.17. EL-LABBAN N.
The mitotic values for the epithelium in oral kera-
toses and lichen planus
Brit. J. Cancer 25/3 (411-416) 1971
- 8.18. ESSER E., TETSCH P.
Klinik und Therapie der intraoralen Leukoplakie
Dtsch. Zahn- Mund- Kieferheilkd. 60 (378-91) 1973
- 8.19. FABRICANT J.
The kinetics of cell proliferation in normal and
malignant tissues. Analysis of labeling indices
and potential tissues doubling times in human cell
populations
J. Surg. Oncol. 1/1 (23-47) 1969
- 8.20. FASSKE E., HAHN W., MORGENROTH K., THEMANN H.
Die Leukoplakie der menschlichen Mundschleimhaut
Mitteilungsdienst der Gesellschaft zur Bekämpfung
der Krebskrankheiten I (1956/59), 1
- 8.21. FAUCON M., DARGENT M.
Apport de l' examen cytologique pour préciser le
diagnostic des états précancéreux intrabuccaux
J.Fr. Otorhinolaryngol. 20 (979-84) 1971

8.22. GREITHER A.

Leukoplakien der Lippen und der Mundschleimhaut
Dtsch. Zahnärztl. Z. 25 (961-64) 1970

8.23. GREITHER A.

Traumatisch irritative Leukoplakien und systemische
Erkrankungen der Mundschleimhaut
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1974, FP. 155-164

8.24. HELL E., CRUICKSHANK C.N.D.

The effect of injury upon the uptake of ^3H -thymidine
by guinea pig epidermis
Exper. Cell Res. 31 (128) 1963

8.25. HENNINGS H., ELGJO K., IVERSEN O.H.

Delayed inhibition of epidermal DNA-synthesis after
injection of an aqueous skin extract (chalone)
Virchows Arch. Abt. B 4 (45-53) 1969

8.26. HOBAEK A.

Leukoplakia oris
Acta Odont. Scand. 7 (61) 1946

8.27. HORNSTEIN O.P.

Orale Leukoplakien
Dtsch. zahnärztl. Z. 32 (497-505) 1977

8.28. IVERSEN O.H.

The regulation of cell numbers in epidermis.
A cybernetic point of view
Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 148 (91-96) 1961

8.29. KARRING T.

Mitotic activity in the oral epithelium
J. Periodont. Res. 8/13 Sup. (47 p.) 1973

8.30. KIRSCHNER H.

Autoradiographische Untersuchungen über die Re-
generationszeit der Mundschleimhaut
Med. Habil.Schr., Gießen 1968

8.31. KLEIN-SZANTO, BANOCZY J., SCHROEDER H.F.

Metaplastic conversion of the differentiation
pattern in oral epithelia affected by leukoplakia
simplex. A stereologic study
Path. Europ. 11 (189-210) 1976

8.32. KRÄNZLE B. et al.

An investigation into the applicability of
cytodiagnosis in the early detection of an oral
cavity cancer at the department of oral surgery
Wien Klin. Wschr. 86/21 (648-50) 1974

8.33. KRAMER J.R.H.

A computer aided study on the tissue changes in oral
keratoses and lichen planus and an analysis of case
groupings by subjective and objective criteria
Brit. J. Cancer 24/3 (407-426) 1970

8.34 KRAMER I.R.

Computer-aided analysis in diagnostic histopathology
Postgrad. Med. J. 51 (640-4) 1975

8.35. KRAMER J.R.

Pre-cancerous lesions of the mouth
J. Laryngol. Otol. 90 (95-100) 1976

8.36. LADINSKY J.L., PECKHAM B.M.

The kinetics of the generative compartment of the
östro-gen dependent vaginal epithelium
Exp. Cell Res. 40 (477) 1965

8.37. LEHNER T.

Quantitative assessment of lymphocytes and plasma
cells in leukoplakia, candidiasis and lichen planus
J. Dent. Res 50 (1661-5) 1971

8.38. MARWAH A.S.

Effect of chronic inflammation on the epithelial
turnover of the human gingiva
A.M.A. Arch. Path., 69 (147-153) 1960

8.39. MATHIS H.

Präkanzerosen der Mundschleimhäute
Zahnärztl. Rundsch. 73 (321) 1964

8.40. MATSUMARA T., KAWAKATSU K.

Verrucous carcinoma of oral mucosa: histochemical
patterns and clinical behaviours
Oral. Surg. 30 (349) 1972

8.41. MAUNZ D.G.M.

Mitotic activity in buccal keratoses
Oral. Surg. Med. Path. 22 (58) 1966

8.42. MIESCHER G.

Die Präkanzerose der Haut und der angrenzenden Schleimhäute

Schweiz. Med. Wochschr. 36 (1072) 1943

8.43. OEHLERT W., BLOCK P.

Der Mechanismus und zeitlicher Ablauf der Regeneration in Geweben mit post- und intermitotischem Zellbestand

Verh. Dtsch. Ges. Path. 46 (333) 1962

8.44. OEHLERT W.

Die Steuerung und Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel

Verh. Dtsch. Ges. Path. 51 (90-119) 1966

8.45. OEHLERT W.

Untersuchung zur normalen und gesteigerten Zellneubildung im mehrschichtigen Plattenepithel der Schweineepidermis

Dtsch. Zahnärztl. Z. 25 (949-960) 1970

8.46. PAPE

Vergleich der klinischen, zytologischen und histologischen Befunde bei 135 Leukoplakien der Mundschleimhaut

Dtsch. Zahnärztl. Z. 25 (964) 1970

8.47. PAPE H.D., PFITZER P., SJEROBABIN I.

Die Charakterisierung von Zellpopulationen maligner Mundschleimhauttumoren und Metastasen durch DNS-Messungen

Acta Stomatol. Belg. 72 (421-3) 1975

- 8.48. PFITZER P., PAPE H.D.
Investigation of DNA-content of leukoplakia cells
of oral mucosa
J. Maxillofac. Surg. 3 (119-24) 1975
- 8.49. PINDBORG et al.
Studies in oral leukoplakias: V. Clinical and
histologic signs of malignancy
Acta Odont. Scand. 21 (407) 1973
- 8.50. PINDBORG, JOLST, RENSTRUP, ROED-PETERSEN
Studies in oral leukoplakia; a preliminary report
on the period prevalence of malignant transforma-
tion in leukoplakia based on a follow up study of
248 patients
J. Americ. Dent. Res. 76 (767-771) 1968
- 8.51. POSWILLO D.
Evaluation, surveillance and treatment of
panoral leukoplakia
J. Maxillofac. Surg. 3 (205-11) 1975
- 8.52. PRANTL F.
Vergleichende autoradiographische Untersuchungen
über die DNS-Synthese der menschlichen Wangen-
schleimhaut mit besonderer Berücksichtigung von
Leukoplakien und Präkanzerosen
Inauguraldissertation Erlangen-Nürnberg 1977
- 8.53. RAJEWSKY
Zellproliferation in normalen und malignen Geweben:
³H-Thymidineinbau in vitro unter Standardbedingungen
Biophysik 3 (65-93) 1966

- 8.54. REISMAN R.J., SCHWARTZ A.E., FRIEDMAN E.W., GERRY R.G.
The malignant potential of oral lichen planus -
diagnostic pitfalls
Oral. Surg. 38 (227-32) 1974
- 8.55. RENSTRUP G.
Leukoplakia of the oral cavity
Acta Odontol. Scand. 16 (99-11) 1958
- 8.56. RENSTRUP
Studies in oral leukoplakias: IV. Mitotic activity
in leukoplakias
Acta Odontol. Scand. 21 (333-340) 1963
- 8.57. SAHAR B.E., DAFTARY D.K., MEHTA F.S.
Cytological and histological keratinization studies
in leukoplakias of the mouth
J. Oral. Pathol. 4 (19-26) 1975
- 8.58. SCHILLI W.
Das Verhalten der Zunge bei verkleinertem
Zungenraum
Fortschr. Kieferorthop. 25 (469-74) 1964
- 8.59. SCOTT E.J. VAN
Reaction patterns of normal and neoplastic epithelium
Advances in biology of skin 7 (75-86) 1966
- 8.60. SCHROLL K.
Statistische Daten über das Mundhöhlenkarzinom
Oest. Z. Krebsforsch. 27 (337-9) 1972

- 8.61. SCHUERMAN H., GREITHER A., HORNSTEIN O.
Krankheiten der Mundschleimhaut und der Lippen
Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, 1966
- 8.62. SONI, SILBERKWEIT, HAYES
Pattern of mototic activity and cell densities
in human gingival epithelium
J. Periodontol. 35 (15-21) 1965
- 8.63. SQUIER C.A., JOHNSON N.W., HOPPS R.M.
Human oral mucosa
Blackwell Scientific Publications, Oxford 1975
- 8.64. TEMPEL V.
Beitrag zur Frage der malignen Entartung von
Leukoplakien der Mundhöhle
Dtsch.Stomatol. 22 (814-20) Okt. 1972
- 8.65. WALDRON C.A., SHAFER W.G.
Leukoplakia revisited. A clinicopathologic study
3256 oral leukoplakias
Cancer 36 (1386-92) 1975

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1976 und 1977 auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. med. O.P. Hornstein in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg erstellt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. med. Hornstein, für das zur Verfügung gestellte Thema und die freundliche Unterstützung bei der Ausarbeitung zu danken. Dank gebührt auch Herrn A. Schönberger für seine Beratung in statistischen Fragen. Frau E. Oppl habe ich für das Abfassen des Manuskripts herzlich zu danken.

Schwandorf, im November 1979

Bertram Graf

LEBENS LAUF:

Am 1.11.1952 wurde ich, Bertram Graf, als erstes Kind meiner Eltern Hans Graf, Polizeidirektor im BGS, und Irene Graf, Hausfrau, in Möhringen/Baden geboren.

Im Herbst 1959 trat ich in die Volksschule in Göppingen ein. Von 1963 bis 1973 besuchte ich das Carl-Friedrich-Gauß-Gymnasium in Schwandorf sowie das Gymnasium Ernestinum in Coburg. Am 8. Juni 1973 wurde mir vom Prüfungsausschuß des C.F.Gauß-Gymnasiums in Schwandorf das Zeugnis der Reife zuerkannt.

Von 1973 bis 1975 erhielt ich die vorklinische Ausbildung an der Universität Regensburg. Zwischenzeitlich absolvierte ich das Krankenpflegepraktikum am Kreiskrankenhaus Nittenau. Nach der Ärztlichen Vorprüfung am 26. August 1975 erfolgte von 1975 bis 1979 die klinische Ausbildung an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen mit Famulatur in der Allgemeinärztlichen Praxis Dr. med. Peter Nüzel in Bruck.

Im August 1976 legte ich den ersten Teil der ärztlichen Prüfung ab, im August 1978 den zweiten Teil. Die praktische Ausbildung erhielt ich 1978/79 in der Ersten Chirurgischen Klinik (Leiter: Professor Dr. med. Holder) sowie der Zweiten Medizinischen Klinik (kommissarischer Leiter: Oberarzt Dr. med. Summa) der Städtischen Krankenanstalten in Nürnberg und in der Universitäts-Frauenklinik in Erlangen (Leiter: Professor Dr. med. Ober).

Ich beendete mein Studium mit dem Ablegen des schriftlichen Teils des dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung am 15. Oktober 1979 in Erlangen sowie des mündlichen Teils am 20. November 1979 in Nürnberg.

